



LIGA AGRÍCOLA INDUSTRIAL DE LA CAÑA DE AZÚCAR

**DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN
DE LA CAÑA DE AZÚCAR (DIECA)**

**PROGRAMA NACIONAL DE PRODUCCIÓN Y DESARROLLO
DE INSUMOS BIOTECNOLÓGICOS**

INFORME DE RESULTADOS AÑO 2020



**San José, Costa Rica
Diciembre 2020**

ÍNDICE

	Página
PRESENTACIÓN	3
PARTICIPANTES	4
INTRODUCCIÓN	5
1. UNIDAD DE PRODUCCIÓN DE CONTROLADORES BIOLÓGICOS	6
1.1. PRODUCCIÓN ANUAL DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS	6
1.2. COBERTURA ANUAL CON HONGOS ENTOMOPATÓGENOS	8
1.3. COBERTURA HISTÓRICA DEL PROGRAMA DE PRODUCCIÓN DE HONGO ENTOMOPATÓGENOS. PERÍODO 1989-2019	12
1.4. PRODUCCIÓN ANUAL DEL PARASITOIDE <i>Cotesia flavipes</i>	17
1.5. COBERTURA ANUAL CON EL PARASITOIDE <i>Cotesia flavipes</i>	18
1.6. COBERTURA HISTÓRICA DEL PROGRAMA DE PRODUCCIÓN DEL PARASITOIDE <i>Cotesia flavipes</i> . PERÍODO 1984-2019	22
1.7. EVALUACIÓN DE TRES DIETAS PARA LA CRÍA EN LABORATORIO DE DIATRAEA SACCHARALIS DESTINADA A MEJORAR LA PRODUCCIÓN DE COTESIA FLAVIPES Y LA DETECCIÓN MOLECULAR DE NOSEMA SP.	26
2. PLANTA DE PRODUCCIÓN DE SUSTRATOS PARA SIEMBRA EN VIVERO	34
3. INVESTIGACIONES PARA EL DESARROLLO DE NUEVOS INSUMOS BIOTECNOLÓGICOS A BASE DE AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO Y MICROORGANISMOS CON EFECTO BIOESTIMULANTE Y BIOFERTILIZANTE PARA EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR	37
3.1. EVALUACIÓN DE LA PATOGENICIDAD DE 15 CEPAS DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS COMO AGENTES DE CONTROL DE JOBOTOS, PHYLLOPHAGA SPP, BAJO CONDICIONES DE INVERNADERO CON PLANTAS DE MAÍZ, ZEA MAYS.	39
3.2. EVALUACIÓN PRELIMINAR DEL HONGO ENTOMOPATÓGENO METARHIZIUM ACRIDUM (CHE-CNRBC-213) COMO AGENTE DE CONTROL DE LA LANGOSTA VOLADORA, SCHISTOCERCA SPP.	40
3.3. EFECTO DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS SOLOS O EN MEZCLA CON ALGA-MI (DIATOMITA) SOBRE LA HORMIGA LOCA, NYLANDERIA FULVA EN EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR	41
3.4. SELECCIÓN DE HONGOS Y BACTERIAS PROMOTORAS DE CRECIMIENTO VEGETAL A NIVEL DE INVERNADERO PARA EL DESARROLLO DE	
3.5. EL BIOCARBÓN, UN INSUMO CON POTENCIAL PARA LA SOSTENIBILIDAD EN LA PRODUCCIÓN DE CAÑA DE AZÚCAR	44

PRESENTACION

Como es conocido, durante muchos años la agroindustria azucarera costarricense ha desarrollado, promovido y consolidado con gran capacidad, iniciativas tecnológicas modernas y muy pragmáticas, orientadas a resolver, mitigar o atenuar la afectación y el impacto que algunas limitantes fitosanitarias asociadas a plagas provocan en nuestras plantaciones comerciales. Algunas de esas iniciativas son pioneras no apenas en el ámbito cañero sino también en la agricultura nacional virtud de su novedad y efectividad. Tópicos vinculados con la multiplicación en el laboratorio de hongos entomopatógenos de los géneros *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* y la avispa parasitoide del género *Cotesia flavipes*, forman parte, entre otras especies, de los productos biológicos desarrollados y puestos a disposición del agricultor. La producción de Substrato Orgánico, forma parte también de la oferta biológica puesta a disposición del sector productor de caña.

El Programa Nacional de Producción y Desarrollo de Insumos Biotecnológicos de DIECA, expone seguidamente, parte de los resultados más notables alcanzados con gran esfuerzo a nivel de laboratorio y planta durante el año 2020, en varias áreas de gestión temática, en lo pertinente a la reproducción de hongos entomopatógenos, multiplicación de parasitoides y fabricación de substratos orgánicos.

Dichos resultados han sido posibles gracias al trabajo constante, profesional y de calidad promovido por los funcionarios a cargo de los proyectos y, también, de los referentes regionales que han contribuido con la labor de liberación, aplicación y monitoreo de campo. Lo anterior fue posible gracias al apoyo brindado por los Ingenios, Productores Independientes y Cámaras de Productores, entre otros; a quienes externamos nuestro reconocimiento y muy sincero agradecimiento.

Ing. Agr. Marco A. Chaves Solera, MSc.

Gerente DIECA

PARTICIPANTES

La labor de investigación de campo fue desarrollada por los siguientes funcionarios:

Ing. Agr. Alejandro Rodríguez Morales M.Sc.	Jefe de Programa Nacional de Productos Biotecnológicos
Ing. Agr. Ana Isabel Alpizar Alfaro	Encargada de Control de Calidad
Licda. Biol. Karen Oviedo Bolaños	Encargada del Laboratorio de Biología Molecular
Ing. Agr. José D. Salazar Blanco	Jefe de Programa Fitosanidad
Ing. Agr. Eduardo Cadet Piedra	Asistente Programa Fitosanidad
Tec. Agrop. Rodrigo Oviedo Alfaro	Asistente Programa Fitosanidad
Ing. Agr. Javier Bolaños Porras	Coordinador Región Valle Central
Ing. Agr. Julio Cesar Barrantes Mora	Coordinador Región Sur
Ing. Agr. Elberth Barquero Madrigal	Coordinador Región Norte
Ing. Agr. Gilberto Calderón Araya	Coordinador Región Turrialba
Ing. Agr. Alvaro Angulo Marchena	Coord. Región de Guanacaste (Cañas)
Ing. Agr. Manuel Rodríguez Rodríguez	Coord. Región de Guanacaste (Liberia)

Se agradece profunda y sinceramente la valiosa colaboración brindada por el personal de apoyo del Departamento de Investigación y Extensión de la Caña de Azúcar (DIECA), principalmente a la Ing. Ana Isabel Alpizar Alfaro por su gran apoyo en muchas de las actividades productivas y de investigación consignadas en este informe. Igual agradecimiento a los estudiantes Mercedes Castro Mena y José Vargas Badilla, quienes realizaron estudios de gran importancia para el mejoramiento de los procesos productivos en el laboratorio de producción de hongos entomopatógenos. Asimismo, se agradece al personal técnico destacado en las regiones cañeras del país y a nuestros colaboradores en los distintos ingenios y fincas cañeras por su gran colaboración en el desarrollo de nuestras actividades.



Introducción

La continuidad de la actividad cañera – azucarera está siendo amenazada por diferentes factores, constituyéndose como los más importantes, el cambio climático, el deterioro del recurso suelo y la rentabilidad de la operación, la cual a su vez, está marcada por el costo creciente de los insumos agrícolas, una disminución en el consumo de azúcar y en la baja en los precios internacionales de este producto.

Es por esta razón que las actividades desarrolladas por el Programa Nacional de Producción y Desarrollo de Insumos Biotecnológicos, se enfocan en la producción de agentes de control biológico y, más recientemente, en el desarrollo de productos bioestimulantes y enmiendas como el biocarbón, con el objetivo de brindar alternativas al uso de agroquímicos, aprovechar los residuos y recursos de las fincas y revertir el proceso de deterioro.

En el año 2020 sobresale la producción de hongos entomopatógenos que alcanzó una cobertura nacional de 7.888,6 ha y la producción del parasitoide *Cotesia flavipes*, con el cual se alcanzó una cobertura de 5.004,0 ha. En conjunto, estos programas alcanzaron una cobertura anual de 12.892,6 ha, siendo esto un ejemplo a nivel nacional desde el año 1984. Desde ese año a la fecha, el programa de hongos entomopatógenos ha alcanzado una cobertura de 122.747 ha y el programa de parasitoides 156.386 ha, evitando así la aplicación de insecticidas y demás productos químicos de naturaleza insecticida.

La planta de producción de sustratos entregó un total de 20,45 t de sustrato cañero para abastecer las necesidades de los programas de producción de semilla básica mediante la técnica de cultivo de tejidos y para iniciar la producción de semilla mediante yemas; además para desarrollar nuevas variedades cañeras y para diferentes proyectos de investigación a nivel de invernadero. Dentro de estos proyectos destacan los procesos de evaluación de hongos y bacterias como agentes de control del joboto, *Phyllophaga* spp, y diferentes microorganismos que promueven el crecimiento vegetal, comunmente llamados bioestimulantes o biofertilizantes.

Como se indicó, estas labores se enfocan en el mejoramiento de la sostenibilidad técnica, productiva y ambiental del cultivo de la caña de azúcar, de cara a los retos que enfrentamos en el presente, y que que con un nivel alto de probabilidad, recrudecerán en el futuro.



1. UNIDAD DE PRODUCCIÓN DE CONTROLADORES BIOLÓGICOS.



1.1. PRODUCCIÓN ANUAL DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.

Durante el año 2020 se produjo un total de 27.223,6 kg de hongo sobre sustrato de arroz. La cepa D 0317 del hongo *Metarhizium anisopliae* fue la más reproducida con un total de 21.223,6 kg, lo cual representó el 77,0% del total reproducido durante el año; esta cepa es utilizada en el cultivo de la caña de azúcar y en pasturas, principalmente para el control del salivazo (*Aeneolamia* spp, *Prosapia* sp y *Zulia* sp), en las regiones Norte, Puntarenas y Guanacaste.

La cepa D 0117 del hongo *Beauveria bassiana* fue reproducida en un total de 6.345,6 kg, lo cual representó el 23,0% del total; esta cepa se utilizó principalmente para el control de la chinche de encaje (*Leptodyctia tabida*) en la región de Guanacaste, pero también para el control del áfido amarillo (*Sipha flava*), el picudo rayado (*Metamasius hemipterus*) y el gusano cogollero (*Spodoptera* sp), en varias regiones del país, principalmente en el Valle Central y en las regiones Sur y Norte. Asimismo, parte de la producción de este hongo se utilizó en el control de plagas de la piña como la tecla (*Tecla basilides*) y la cochinilla harinosa (*Dysmicoccus brevipes*); de pasturas como el gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), la chinche de los pastos “blissus” (*Blissus* sp) y el salivazo (*Prosapia* spp); y de diferentes cultivos hortícolas como chile y tomate.

Respecto a la especie de hongo, 21.223,6 kg correspondieron a *M. anisopliae* (77,0%); y 6.345,6 kg (23,0%) correspondieron a *B. bassiana*.

La Figura 1 muestra las cantidades mensuales producidas según cepa; claramente se observa que los meses de marzo a octubre fueron los de mayor producción, fluctuando entre los 2.624,0 kg (marzo) y los 5.000,0 kg (octubre); *M. anisopliae* se produjo durante todo este período, mientras que *B. bassiana* se produjo principalmente durante los meses de mayo y octubre. La Figura 2 muestra la distribución porcentual anual de la producción según cepa.

CUADRO 1.
Producción mensual de hongos entomopatógenos según especie durante el año 2020.
Datos referidos a hongo sobre sustrato (kg).

MES	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
	D 0317	D 0117
Enero	0,0	0,0
Febrero	298,4	0,0
Marzo	2.624,0	0,0
Abril	1.967,2	0,0
Mayo	2.046,0	645,2
Junio	2.548,4	606,4
Julio	1.942,8	2.402,8
Agosto	4.222,0	407,6
Septiembre	3.843,6	1.200,8
Octubre	1.731,2	962,8
Noviembre	0,0	120,0
Diciembre	0,0	0,0
TOTAL/CEPA	21.223,6	6.345,6
% CEPA	77,0	23,0
TOTAL ANUAL	27.569,2	

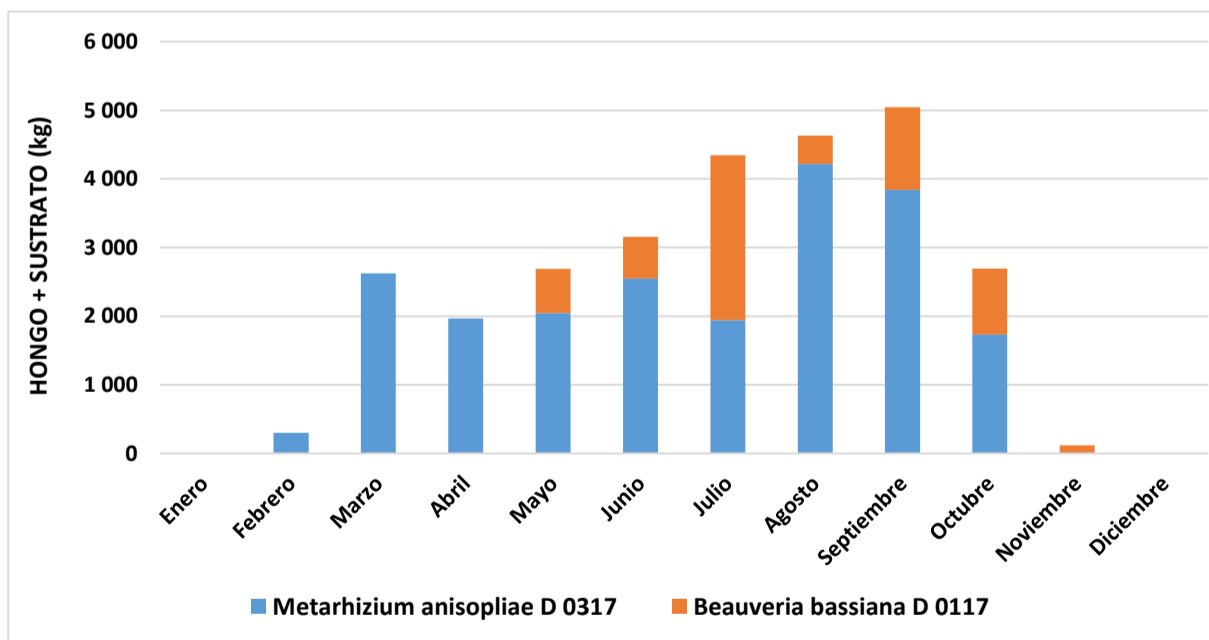


FIGURA 1.
Distribución mensual de la producción de hongos entomopatógenos según cepa.
Año 2020.

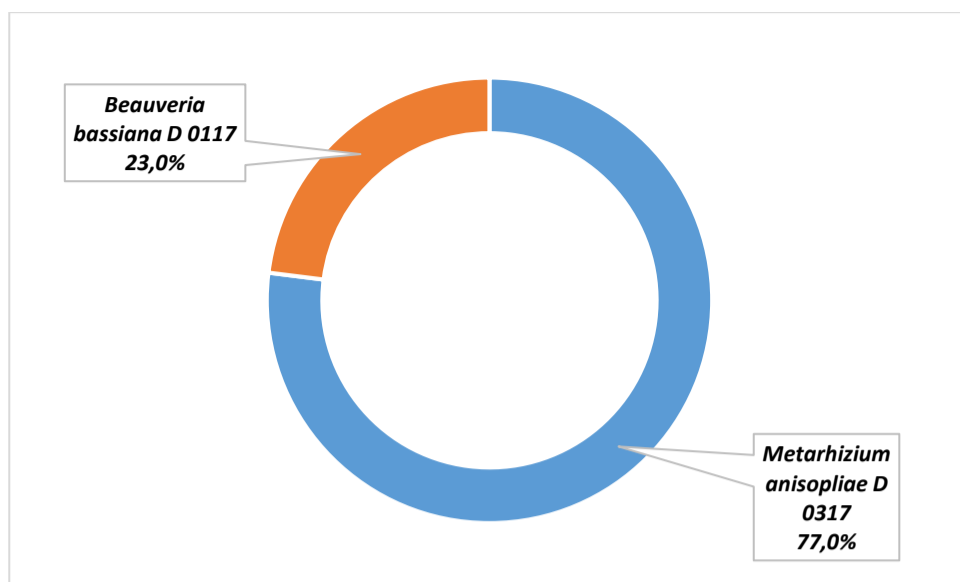


FIGURA 2.
Producción porcentual anual de hongos entomopatógenos según especie de hongo.
Año 2020.



1.2. COBERTURA ANUAL CON HONGOS ENTOMOPATÓGENOS.

La liberación de hongos entomopatógenos durante el año 2020 alcanzó los 29.443,0 kg, volumen que sirvió para atacar problemas de plagas en un total de 5.888,6 ha en todas las regiones cañeras del país (Cuadro 2).

Aparte de las ventas nacionales, que gracias al convenio con la empresa Orgánicos Ecogreen repuntaron respecto a los últimos 5 años, alcanzando los 6.184,0 kg (21,0%), fueron los productores de la región Norte, quienes utilizaron la mayor cantidad de hongos con un total de 5.484,0 kg (18,63%). Otros beneficiarios que utilizaron cantidades importantes de hongos fueron El Ingenio El Palmar (5.414,0 kg; 18,39%), el Ingenio El Viejo (3.216,0 kg; 10,92%); el Ingenio Quebrada Azul (3.005,0 kg; 10,21%) y el Ingenio CoopeVictoria (2.159,0 kg; 7,33%). Este material biológico fue utilizado principalmente para la atención del salivazo (*Aeneolamia* sp, *Prosapia* sp, *Zulia* sp) y la cigarrita antillana (*Saccharosydne saccharivora*), mediante el hongo *Metarhizium anisopliae*, así como del áfido amarillo (*Sipha flava*) y la chinche de encaje (*Leptodyctia tabida*), mediante el hongo

Beauveria bassiana. El Cuadro 2 muestra la distribución de los hongos según cepa y beneficiario, incluyendo una pequeña cantidad del hongo *Trichoderma* sp, cuyo sistema de producción masiva está siendo desarrollado para ofrecerlo como un agente bioestimulante para promover el vigor de crecimiento y la sanidad del cultivo.

CUADRO 2.
Cobertura del programa de producción de hongos entomopatógenos
según beneficiario y región. Año 2020.

BENEFICIARIO	<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Trichoderma</i> sp	TOTAL (kg)	%
Venta	3.257	2.927	0	6.184	21,00
Prod. San Carlos	5.439	45	0	5.484	18,63
Ingenio El Palmar	5.414	0	0	5.414	18,39
Ingenio El Viejo	2.560	655	1	3.216	10,92
Ingenio Quebrada Azul	2.200	805	0	3.005	10,21
Ingenio Coopevictoria	1.337	820	2	2.159	7,33
Prod. Guanacaste este	1.177	200	0	1.377	4,68
Ingenio Taboga	540	265	0	805	2,73
CATSA	520	42	0	562	1,91
Productores Sur	160	270	0	430	1,46
Ingenio Cutris	393	0	0	393	1,33
Prod. Valle Central	250	60	0	310	1,05
Prod. Puntarenas	40	0	0	40	0,14
Investigación	15	16	0	31	0,11
Ingenio San Rafael	12	10		22	0,07
Donación	4	2	3	9	0,03
Demostración	1	1	0	2	0,01
TOTAL	23.319	6.118	6	29.443	100
%	79,20	20,78	0,02	100	-

Regionalmente, de acuerdo al tipo de beneficiario (productores independientes, ingenios, ventas y otros), el Cuadro 3 muestra que en la región Norte, a nivel de productores, se destinó un total de 5.484,0 kg, alcanzando una cobertura de 1.097,0 ha y representando esto el 61,6% liberado en la región; por su parte, los ingenios de la región utilizaron un total de 3.420,0 kg en 684,0 ha, lo que representó el 38,8%.

En la región Guanacasteca, los ingenios liberaron 4.583,0 kg en 917,0 ha (76,9%), mientras que los productores de la zona liberaron 1.377,0 kg en 275,0 ha (23,1%). En la región de Puntarenas, el Ingenio El Palmar liberó un total de 5.414,0 kg en 1.083,0 ha (99,3%), mientras que los productores de la región liberaron únicamente 40,0 kg en 8,0 ha (0,7%).

En el Valle Central los ingenios liberaron 2.159,0 kg en 432,0 ha (87,4%). Aquí se incluyó material biológico aplicado en la región Norte de caña de azúcar que fue molida en el Valle Central, como sucedió con CoopeVictoria. Por su parte, los productores de la región utilizaron 310,0 kg en 62,0 ha (12,6%). En la región Sur, únicamente los productores aplicaron hongos en un total de 430,0 kg en 86,0 ha. Los datos expuestos se observan en el Cuadro 3.

CUADRO 3.
Cobertura del programa de producción de hongos entomopatógenos según tipo de beneficiario y región. Año 2020.

REGIÓN	TIPO DE BENEFICIARIO	TOTAL	COBERTURA (ha)	% REGIONAL
NORTE	Ingenios	3.420	684	38,4
	Productores	5.484	1.097	61,6
GUANACASTE	Ingenios	4.583	917	76,9
	Productores	1.377	275	23,1
PUNTARENAS	Ingenios	5.414	1.083	99,3
	Productores	40	8	0,7
VALLE CENTRAL	Ingenios	2.159	432	87,4
	Productores	310	62	12,6
SUR	Ingenios	0	0	0,0
	Productores	430	86	100,0
VENTAS Y OTROS	VENTAS	6.184	1.237	99,3
	OTROS	42	8	0,7
TOTAL		29.443	37.521	-

Según se detalla en el Cuadro 4, a nivel de regional, la región Norte utilizó la mayor cantidad de hongos durante el año 2020, principalmente para el combate del salivazo (*Aeneolamia* sp) y en menor grado para el control de la cigarrita antillana (*Saccharosydne saccharivora*) y el áfido amarillo (*Sipha flava*). Para esta tarea en la zona se aplicó un total de 8.904,0 kg (30,2%), cubriendo un área aproximada a las 1.780,8 ha.

En segundo lugar, la región de Guanacaste, principalmente debido a brotes con salivazo y chinche de encaje (*Leptodyctia tabida*), aplicó un total de 5.960,0 kg (20,2%), para una cobertura de 1.192,0 ha. En tercer lugar se ubicó la región de Puntarenas influenciada por brotes de salivazo en fincas pertenecientes al ingenio El Palmar, en donde debió aplicar un total de 5.454,0 kg (18,5%) en un área aproximada de 1.090,0 ha. En cuarto y quinto lugar se ubicaron las regiones del Valle Central y la región Sur, con 2.469,0 kg (8,4%) y 430,0 kg (1,5%), para brindar coberturas de 493,8 ha y 86,0 ha, respectivamente.

Las ventas a nivel nacional como se indicó anteriormente, ascendieron a los 6.176 kg, lo que representó el 21,0% del total liberado en el año 2020. La Figura 3 muestra los porcentajes de cobertura regional para el año 2020.

CUADRO 4.
Cobertura del programa de producción de hongos entomopatógenos según región. Año 2020.

REGIÓN	TOTAL	COBERTURA (ha)	%
NORTE	8.904	1.780,8	30,2
GUANACASTE	5.960	1.192,0	20,2
PUNTARENAS	5.454	1.090,8	18,5
VALLE CENTRAL	2.469	493,8	8,4
SUR	430	86,0	1,5
VENTAS	6.173	1.234,6	21,0
OTROS	53	10,6	0,2
TOTAL	29.443	5.889	100

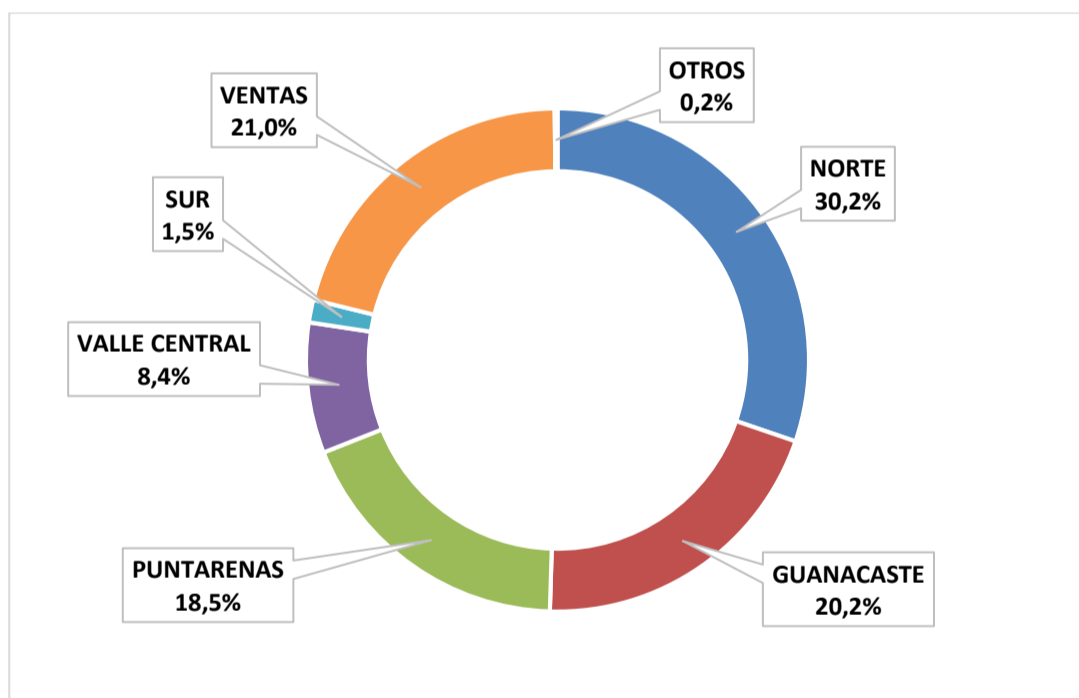


FIGURA 3.
Cobertura porcentual con hongos entomopatógenos según región. Año 2020.

A nivel nacional, de acuerdo al tipo de beneficiario, el cuadro 5 y la Figura 4 muestran que los 8 ingenios del país a los cuales se les destinó hongos entomopatógenos durante el año 2020, acumularon un total de 15.576,0 kg (52,9%), para una cobertura total de 3.115,2 ha. Por su parte, los productores recibieron un total de 7.641,0 kg (26,0%).

CUADRO 5.
Cobertura del programa de producción de hongos entomopatógenos según tipo de beneficiario. Año 2020.

TIPO DE BENEFICIARIO	TOTAL	COBERTURA (ha)	%
INGENIOS	15.576	3.115,2	52,9
PRODUCTORES	7.641	1.528,2	26,0
VENTAS	6.173	1.234,6	21,0
OTROS	53	10,6	0,2
TOTAL	29.443	5.888,6	100

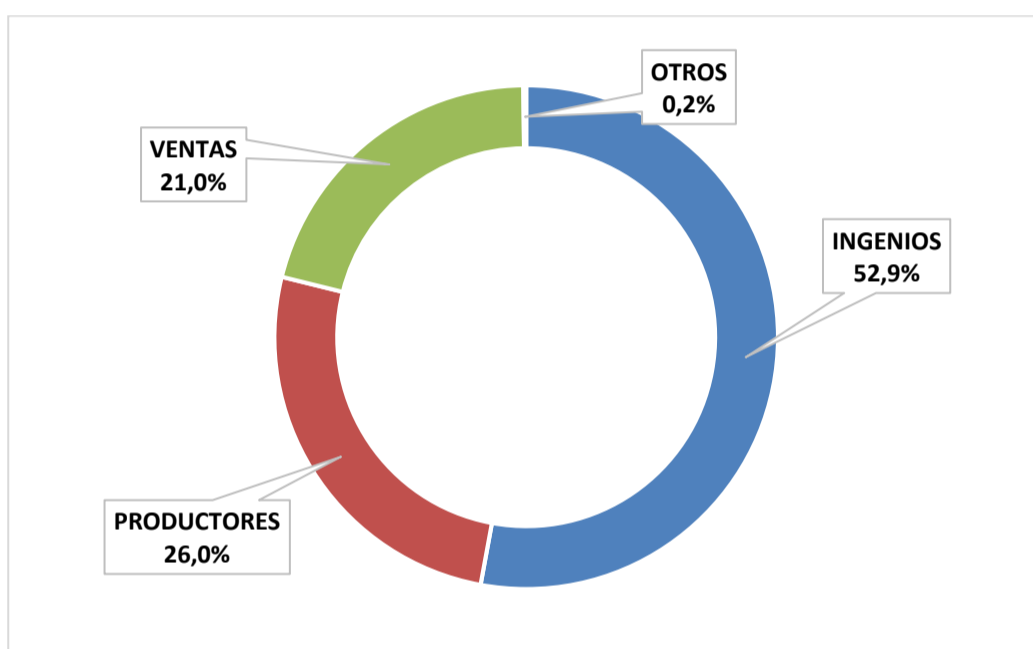


FIGURA 4.
Cobertura porcentual con hongos entomopatógenos según tipo de beneficiario. Año 2020.

1.3. COBERTURA HISTÓRICA DEL PROGRAMA DE PRODUCCIÓN DE HONGOS ENTOMOPATÓGENOS. PERÍODO 1989-2020.

Con los resultados anteriormente descritos para el año 2020, la cobertura histórica con hongos entomopatógenos durante el período 1989 - 2020 ascendió a los 613.734,7 kg y a una cobertura total aproximada a las 122.746,9 ha. Durante este período de 32 años, los 10 beneficiarios en orden descendente que acumularon la mayor cantidad de hongos aplicados, fueron: 1) Ventas (internas y externas) con un total de 171.064,0 kg (27,873% del total); 2) Ingenio El Palmar con 88.977,5 kg (14,498%); 3) Productores de la Zona Norte con 81.738,5 kg (13,318%); 4) Ingenio Cutris con 54.661,0 kg (8,906%); 5) Ingenio Taboga con 39.765,0 kg (6,479%); 6) Ingenio Quebrada Azul 30.932,0 kg (5,040%), 7) Ingenio Santa Fe (extinto) con 27.306 kg (4,449%);, 8) Productores independientes de la zona de Liberia,

Santa Cruz y Carrillo con 23.819,0 kg (3,881%); 9) Ingenio El Viejo con 25.377,0 kg (4.135%) y 10) Productores independientes en la zona de Cañas, Bagaces y Abangares con 18.628,0 kg (3.035%). El Cuadro 6 muestra estos resultados y los obtenidos con otros beneficiarios menores.

CUADRO 6.
Cobertura histórica del programa de producción de hongos entomopatógenos según beneficiario y región o destino. Período 1989 – 2020.

BENEFICIARIO	REGIÓN / DESTINO	1989-2020	COBERTURA (ha)	%
Ventas	Nacional y Export.	171.064,0	34.212,8	27,873
Ingenio El Palmar	Pacífico Central	88.977,5	17.795,5	14,498
Productores Zona Norte	Norte	81.738,5	16.347,7	13,318
Ingenio Cutris	Norte	54.661,0	10.932,2	8,906
Ingenio Taboga	Guanacaste	39.765,0	7.953,0	6,479
Ingenio Quebrada Azul	Norte	30.932,0	6.186,4	5,040
Ingenio Santa Fe	Norte	27.306,0	5.461,2	4,449
Prod. Liberia, Sta. Cruz, Carrillo	Guanacaste	23.819,0	4.763,8	3,881
Ingenio El Viejo	Guanacaste	25.377,0	5.075,4	4,135
Prod. Cañas, Bagaces	Guanacaste	18.628,0	3.725,6	3,035
Ingenio CATSA	Guanacaste	12.175,0	2.435,0	1,984
Ingenio Coopevictoria	Valle Central	8.989,0	1.797,8	1,465
Productores Puntarenas	Pacífico Central	6.816,0	1.363,2	1,111
Ingenio Coopecañera	Pacífico Central	6.000,0	1.200,0	0,978
Ingenio Coopeagri	Sur	5.050,0	1.010,0	0,823
Invest., donación, demos.	Nacional	3.260,7	652,1	0,531
Ingenio Providencia	Norte	2.916,0	583,2	0,475
Ingenio Juan Viñas	Turrialba	2.388,0	477,6	0,389
Productores Pérez Zeledón	Sur	1.881,0	376,2	0,306
Productores Valle Central	Valle Central	1.346,0	269,2	0,219
Ingenio Costa Rica	Valle Central	428,0	85,6	0,070
Ingenio Porvenir	Norte	121,0	24,2	0,020
Productores Turrialba	Turrialba	49,0	9,8	0,008
Ingenio La Argentina	Valle Central	25,0	5,0	0,004
Ingenio San Rafael	Norte	22,0	4,4	0,004
TOTAL	-	613.734,7	122.746,9	100,0

Respecto al tipo de beneficiario y región, los productores de la región Norte utilizaron un total de 81.738,5 kg (41,3% del total regional), para un área de cobertura estimada en 16.347,7 ha; mientras que los ingenios de la zona utilizaron 115.958,0 kg (58,7% regional), en un área estimada de 24.989,4 ha. En la región de Guanacaste, los productores utilizaron 42.447,0 kg (35,4% regional), en un área estimada de 8.489,4 ha; mientras que los ingenios de la zona utilizaron 77.317,0 kg (64,6% del total), para un área aproximada de 15.463,4 ha. En la región de Puntarenas, los productores independientes utilizaron 6.816,0 kg (6,7%), en un área estimada de 1.363,2 ha; mientras que los ingenios de la zona (incluyendo al extinto ingenio Coopecañera), utilizaron un total de 94.977,5 kg (93,3%), para un área de cobertura estimada en 18.995,5 ha.

Con menores cantidades de hongo utilizado se registra la región Sur, cuyos productores aplicaron 1.881,0 kg (27,1%) en un área estimada de 367,22 ha; mientras que el ingenio de la zona (CoopeAgri), al no contabilizar aplicaciones durante el año 2020, mantuvo un acumulado de 5.050,0 kg (72,9%), para un área de 1.010,0 ha. La misma situación aconteció para la región de Turrialba y Juan Viñas, cuyos los productores utilizaron únicamente 49,0 kg para un área de cobertura de 9,8 ha (2,0%); mientras que el ingenio de la Hacienda Juan Viñas, aplicó 2.388,0 kg (98,0%), para una cobertura de 477,6 ha. Finalmente, en el Valle Central los productores utilizaron 1.346,0 kg (12,5%), en un área aproximada de 269,2 ha; mientras que los ingenios de la zona aplicaron 9.442,0 kg (87,5%), en un área de 1.888,4 ha. El Cuadro 7 muestra detalladamente las cantidades utilizadas por región, según tipo de beneficiario, así como el área de cobertura correspondiente.

CUADRO 7.
Cobertura histórica del programa de producción de hongos entomopatógenos
según tipo de beneficiario y región. Período 1989-2020.

REGIÓN	TIPO DE BENEFICIARIO	1989-2019	COBERTURA (ha)	REGIÓN (%)
NORTE	Ingenios	115.958,0	23.191,6	58,7
	Productores	81.738,5	16.347,7	41,3
GUANACASTE	Ingenios	77.317,0	15.463,4	64,6
	Productores	42.447,0	8.489,4	35,4
PUNTARENAS	Ingenios	94.977,5	18.995,5	93,3
	Productores	6.816,0	1.363,2	6,7
SUR	Ingenios	5.050,0	1.010,0	72,9
	Productores	1.881,0	376,2	27,1
TURRIALBA	Ingenios	2.388,0	477,6	98,0
	Productores	49,0	9,8	2,0
VALLE CENTRAL	Ingenios	9.442,0	1.888,4	87,5
	Productores	1.346,0	269,2	12,5
VENTAS	-	171.064,0	34.212,8	27,9
OTROS	-	3.260,7	652,1	0,5
TOTAL		613.734,7	122.746,9	-

En el ámbito regional, el Cuadro 8 y la Figura 5 muestran que la región Norte acumuló 197.696,5 kg de hongos aplicados (32,21% del total histórico), para un área de cobertura de 39.539,3 ha; la región de Guanacaste aplicó un total de 119.764,0 kg (19,51%), para una cobertura de 23.952,8 ha; en Puntarenas se aplicó 101.793,5 kg (16,59%), en un área de 20.358,7 ha; la región Sur aplicó 6.931,0 kg (1,13%), para una cobertura de 1.386,2 ha; la región de Turrialba – Juan Viñas aplicó 2.437,0 kg (0,40%), para una cobertura de 487,4 ha; en la región del Valle Central se aplicó un total de 10.788,0 kg (1,76%), para una cobertura de 2.157,6 ha.

CUADRO 8.
Cobertura histórica del programa de producción de hongos entomopatógenos
según región. Período 1989-2020.

REGIÓN	1989-2019	COBERTURA (ha)	%
NORTE	197.696,5	39.539,3	32,21
GUANACASTE	119.764,0	23.952,8	19,51
PUNTARENAS	101.793,5	20.358,7	16,59
SUR	6.931,0	1.386,2	1,13
TURRIALBA	2.437,0	487,4	0,40
VALLE CENTRAL	10.788,0	2.157,6	1,76
VENTAS	171.064,0	34.212,8	27,87
OTROS	3.260,7	652,1	0,53
TOTAL	613.734,7	122.746,9	100,0

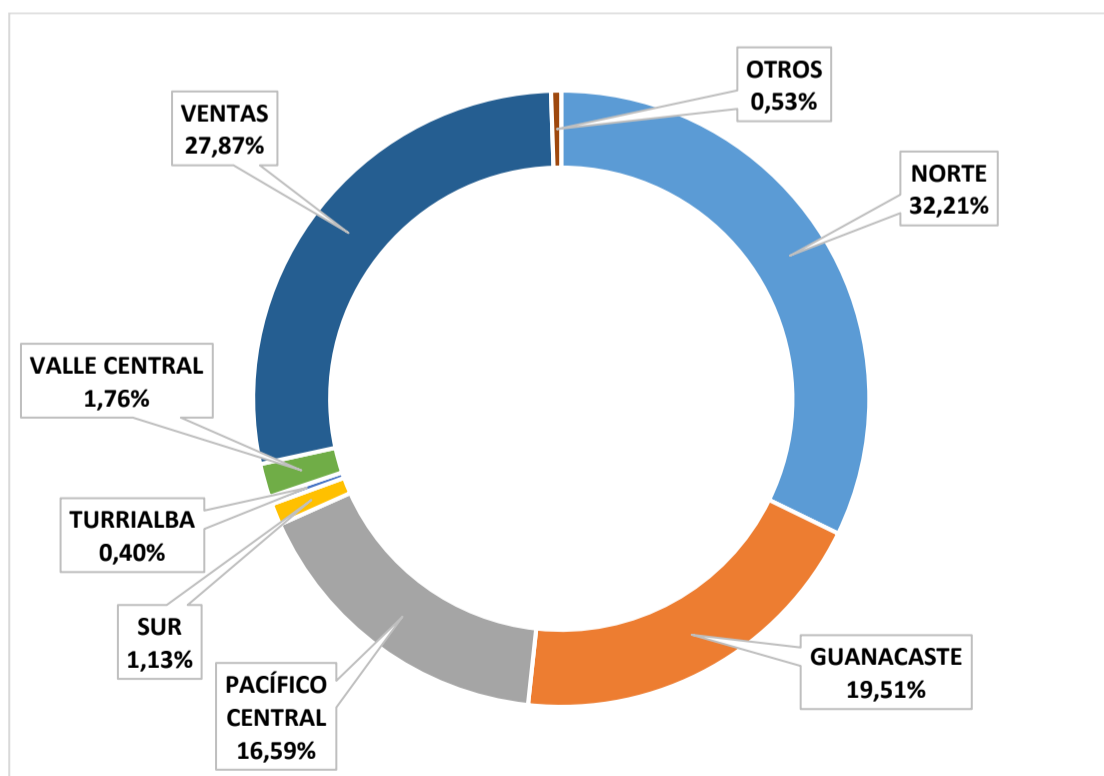


FIGURA 5.
Cobertura histórica porcentual con hongos entomopatógenos según región.
Período 1984 – 2020.

De acuerdo al tipo de beneficiario, los registros históricos han evidenciado un mayor uso de los hongos entomopatógenos a nivel de ingenio, en comparación con los productores independientes. Los primeros aprovecharon 305.132,5 kg, lo que correspondió al 49,72% del total aplicado, y sirvió para cubrir un área de 61.026,5 ha; mientras que los segundos aplicaron 134.277,5 kg (21,88%), en un área de 26.185,5 ha (Cuadro 9 y Figura 6).

CUADRO 9.
Cobertura histórica del programa de producción de hongos entomopatógenos según tipo de beneficiario. Período 1989-2020.

TIPO DE BENEFICIARIO	1989-2019	AREA (ha)	%
INGENIOS	305.132,5	61.026,5	49,72
PRODUCTORES	134.277,5	26.855,5	21,88
VENTAS	171.064,0	34.212,8	27,87
OTROS	3.260,7	652,1	0,53
TOTAL	613.734,7	122.746,9	100,0

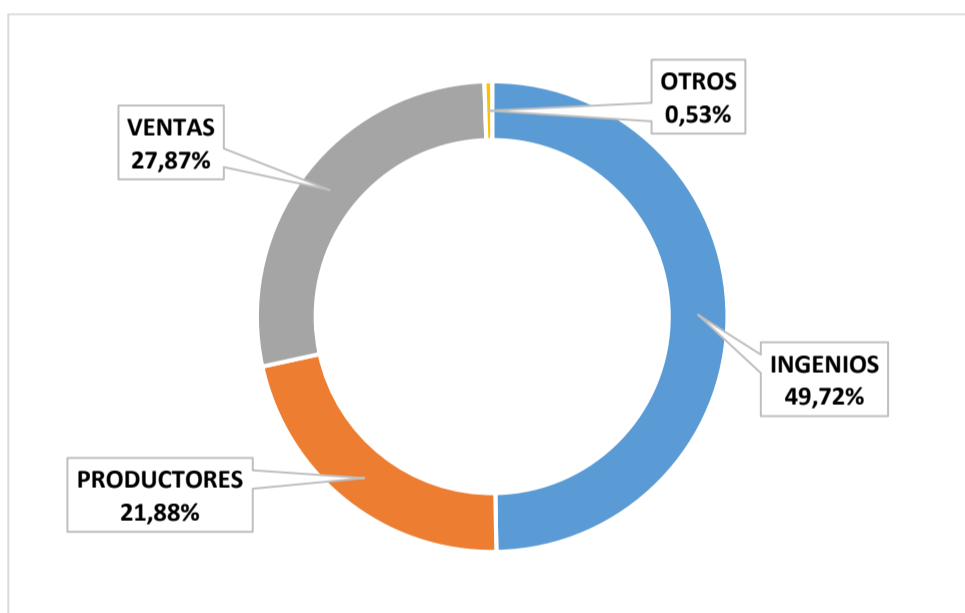


FIGURA 6.
Cobertura histórica porcentual con hongos entomopatógenos según región. Período 1984 – 2020.



1.4. PRODUCCIÓN ANUAL DEL PARASITOIDE *Cotesia flavipes*.

En el año 2020 se alcanzó una producción total de 38.753.700 avispas, de las cuales 30.023.700 (77,5%), fueron liberadas como agente de control del barrenador común del tallo, *Diatraea guatemalaella*, *D. tabernella* y *D. saccharalis*; las restantes 8.730.000 avispas (22,5%), se utilizaron dentro de la Unidad Reproductora para asegurar la continuidad del proceso de reproducción, lo que se conoce como “pie de cría” (Cuadro 10).

Durante este año se detectó al patógeno *Nosema* sp parasitando el pie de cría de *C. flavipes*, lo que redujo de forma importante la eficiencia de parasitación de laboratorio y fue la principal razón de haber utilizado un porcentaje mayor de estas avispas para uso en el laboratorio. Como referencia, el año anterior se ocupó un total de 3,8 millones de avispas para liberar 31,5 millones de avispas; mientras que en el año 2020 debido al efecto de *Nosema* sp, se utilizó 8,7 millones para liberar un total de 30,0 millones de avispas.

La Figura 7 muestra que a diferencia de años anteriores, en el año 2020 la producción fuerte inició de forma temprana en el mes de enero y se mantuvo creciente hasta el mes de julio; lo anterior con el objetivo de disponer de suficientes avispas para abastecer a tres regiones cañeras que han experimentado importantes afectaciones por el barrenador, como lo son la región Sur, el Valle Central y la región Norte. Durante el mes de agosto y hasta noviembre, la producción de avispas decayó por el efecto de *Nosema* sp.

CUADRO 10.
Producción mensual de *Cotesia flavipes* para el control de *Diatraea* spp
y para el mantenimiento del pie de cría. Año 2020.

MES	CAMPO	PIE DE CRÍA	TOTAL/MES
ENERO	2.113.500	843.750	2.957.250
FEBRERO	1.521.200	997.500	2.518.700
MARZO	3.170.600	793.125	3.963.725
ABRIL	3.551.900	871.875	4.423.775
MAYO	3.832.500	1.179.375	5.011.875
JUNIO	3.717.000	1.110.000	4.827.000
JULIO	3.685.500	781.875	4.467.375
AGOSTO	1.681.500	328.125	2.009.625
SEPTIEMBRE	1.506.000	421.875	1.927.875
OCTUBRE	1.794.000	425.625	2.219.625
NOVIEMBRE	1.743.000	461.250	2.204.250
DICIEMBRE	1.707.000	515.625	2.222.625
TOTAL	30.023.700	8.730.000	38.753.700
%	77,5	22,5	100

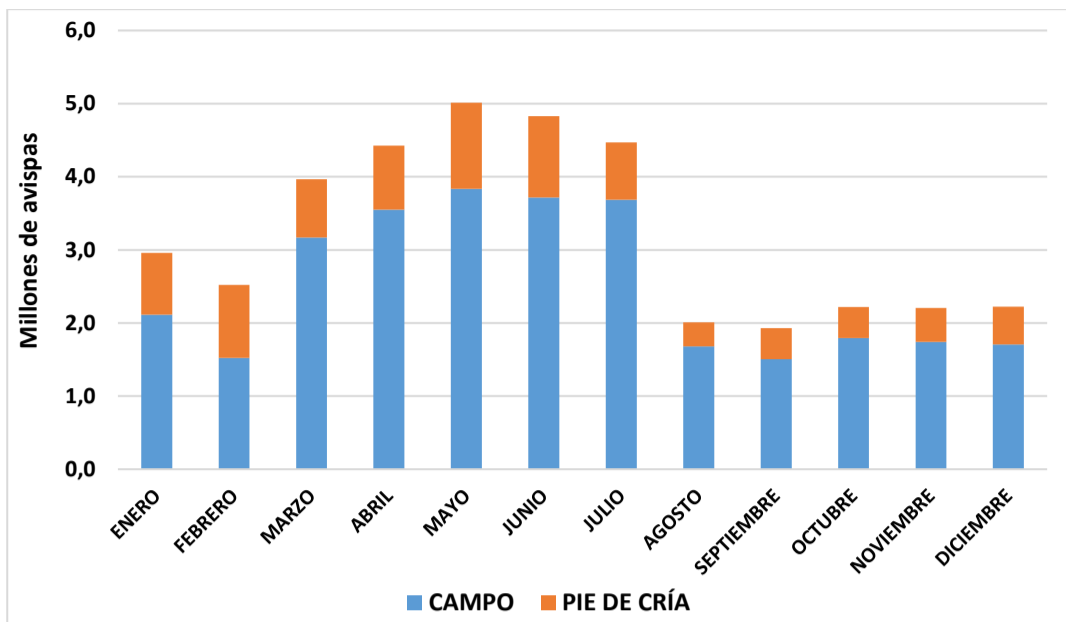


FIGURA 7.
Producción mensual de avispas durante el año 2020.

1.5. COBERTURA ANUAL CON EL PARASITOIDE *Cotesia flavipes*.

De acuerdo al Cuadro 11, como tradicionalmente ha sucedido, el principal usuario del programa durante el año 2020, fue Hacienda Juan Viñas, en donde se liberó un total de 8.430.750 avispas, con una cobertura de 1.405,1 ha, lo cual representó el 28,3% del total liberado. En segundo lugar se colocó el Ingenio CoopeVictoria, en cuyas fincas del Valle Central y de la región norte se liberó un total de 4.006.500 avispas, con una cobertura de 667,8 ha, y representando esto el 13,3% del total. El tercer lugar correspondió a los Productores de la Región Sur, en cuyas fincas se liberó un total de 3.459.500 avispas, con una cobertura de 576,5 ha, y representando esto el 11,5% del total liberado.

Ocupando posiciones intermedias se ubicaron los productores de la Región Norte, con una liberación de 2.610.000 avispas, y un área de cobertura de 435,0 ha, lo que representó el 8,28% del total; los Productores en el Valle Central, con una liberación de 2.598.000 de avispas, y una cobertura de 433,0 ha, y representando esto el 8,7%; fincas de productores de Turrialba (Atirro), distribuidas por medio de CoopeCañita, con una liberación de 2.400.000 avispas, en 400,0 ha, y representando esto el 8,0%; fincas de productores de la región Norte, con una liberación de 2.395.500 avispas, una cobertura de 399,3 ha, y representando esto el 8,0%.

Con menores cantidades liberadas se ubicaron el Ingenio Taboga, con una liberación de 2.026.500 avispas, una cobertura de 337,8 ha, representando el 6,7% del total; fincas del Ingenio Quebrada Azul con una liberación de 1.815,000 avispas en un área de 302,5 ha, representando el 6,0%; el Ingenio CoopeAgri con una liberación de 1.153.500 avispas, en un área de 192,3 ha y representando el 3,8% y el Ingenio Cutris con 928.500 avispas en un área de 154,5 ha (3,1%). Estos y otros beneficiarios se detallan en el Cuadro 11

CUADRO 11.
Cobertura del programa de producción de *Cotesia flavipes* durante el año 2020.

BENEFICIARIO	REGIÓN	TOTAL	COBERTURA (ha)	%
Ingenio Juan Viñas	Turrialba	8.430.750	1.405,1	28,1
Ingenio Coopevictoria	Valle Central	4.006.500	667,8	13,3
Productores Región Sur	Sur	3.459.000	576,5	11,5
Productores Valle Central	Valle Central	2.598.000	433,0	8,7
Productores Turrialba	Turrialba	2.400.000	400,0	8,0
Productores Región Norte	Norte	2.395.500	399,3	8,0
Ingenio Taboga	Guanacaste	2.026.500	337,8	6,7
Ingenio Quebrada Azul	Norte	1.815.000	302,5	6,0
Ingenio CoopeAgri	Sur	1.153.500	192,3	3,8
Ingenio Cutris	Norte	928.500	154,8	3,1
Ingenio El Viejo	Guanacaste	343.500	57,3	1,1
Productores Guanacaste	Guanacaste	262.500	43,8	0,9
Productores Puntarenas	Puntarenas	180.000	30,0	0,6
Ingenio El Palmar	Puntarenas	24.000	4,0	0,1
TOTAL		30.023.250	5.004	100

Regionalmente, de acuerdo al tipo de beneficiario (productores independientes, ingenios), el Cuadro 12 muestra que en la región de Turrialba, el ingenio de la región (Hda. Juan Viñas) liberó un total de 8.430.750 avispas en un área de 1.405 has, lo que representó el 77,8% de las avispas liberadas, mientras que los productores liberaron 2.400.000 avispas en 400,0 ha, lo que representó el 22,2% restante de la región. En la región Norte los ingenios liberaron 2.743.500 avispas en 457,0 ha, lo que representó un 53,4%; mientras que los productores de la región liberaron 2.395.500 avispas en 399,0 ha, representando el 46,6%. En la región del Valle Central, los ingenios liberaron 4.006.500 avispas en 668,0 ha, para un 60,7%, mientras que los productores liberaron 2.598.000 avispas en 433,0 ha, lo que representó el 39,3%. En la región Sur, el ingenio CoopeAgri liberó 1.153.500 avispas en 192,0 ha, lo que representó el 25,0%, mientras que los productores liberaron 3.459.000 avispas en 577,0 ha, representando el 75,0%.

Finalmente en las regiones de Guanacaste y Puntarenas, los ingenios liberaron 2.370.000 y 24.000 avispas, brindando coberturas de 395,0 y 4,0 ha, respectivamente; esto representó el 90,0% y 11,8%, respectivamente. Los productores en dichas regiones liberaron 262.500 y 180.000 avispas, para coberturas de 44,0 y 30,0 ha, lo que representó el 10,0% y 88,2% de cada región, respectivamente.

CUADRO 12.
Cobertura del programa de producción de *Cotesia flavipes* según región y tipo de beneficiario durante el año 2020.

REGIÓN	TIPO DE BENEFICIARIO	TOTAL	COBERTURA (ha)	%
Turrialba	Ingenios	8.430.750	1.405	77,8
	Productores	2.400.000	400	22,2
Norte	Ingenios	2.743.500	457	53,4
	Productores	2.395.500	399	46,6
Valle Central	Ingenios	4.006.500	668	60,7
	Productores	2.598.000	433	39,3
Sur	Ingenios	1.153.500	192	25,0
	Productores	3.459.000	577	75,0
Guanacaste	Ingenios	2.370.000	395	90,0
	Productores	262.500	44	10,0
Puntarenas	Ingenios	24.000	4	11,8
	Productores	180.000	30	88,2
TOTAL		30.023.250	5.004	

De acuerdo al tipo de beneficiario, los ingenios utilizaron un total de 18.728.250 avispas en un área aproximada a las 3.121,4 ha (62,4%); mientras que los productores utilizaron 11.295.000 avispas en 1.882,5 ha (37,6%). Debido al cierre de fronteras por la pandemia con COVID-19, no fue posible realizar ninguna exportación de avispas. El Cuadro 13 y la Figura 8 muestran las cantidades de avispas liberadas en términos absolutos y porcentuales.

CUADRO 13.
Cobertura del programa de producción de *Cotesia flavipes* según tipo de beneficiario durante el año 2020.

TIPO DE BENEFICIARIO	TOTAL	COBERTURA (ha)	%
Ingenios	18.728.250	3.121,4	62,4
Productores	11.295.000	1.882,5	37,6
TOTAL	30.023.250	5.003,9	100

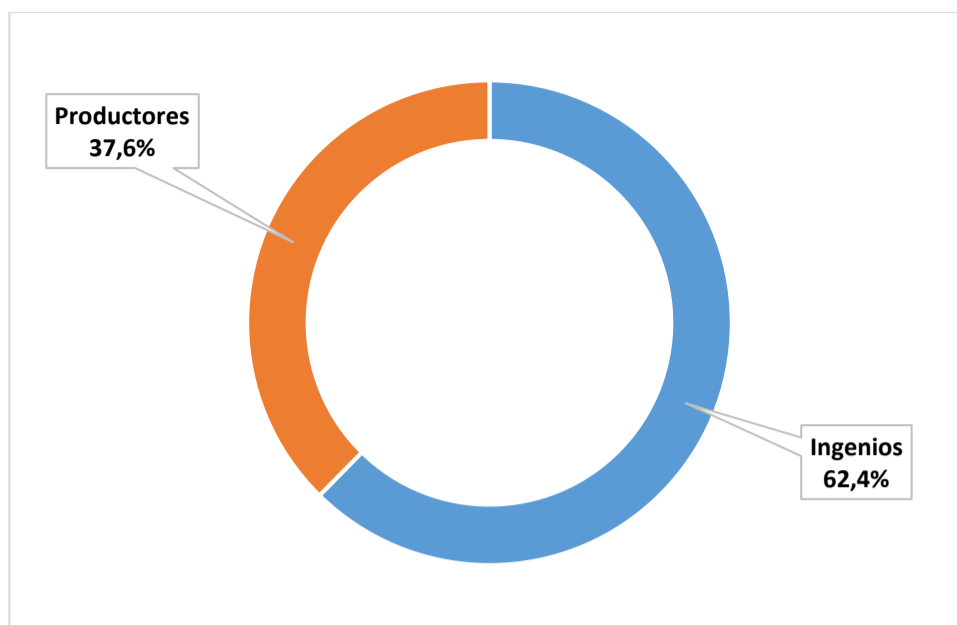


FIGURA 8.
Liberación porcentual de *Cotesia flavipes* según tipo de beneficiario. Año 2020.

A nivel regional, fue en Turrialba donde se liberó la mayor cantidad de avispas, con un total de 10.830.750, para una cobertura de 1.805,1 ha, lo cual representó el 36,1% del total liberado. En segundo lugar se ubicó la región del Valle Central, liberando 6.604.500 avispas en 1.100,8 ha; lo que representó el 22,0% del total. En tercer lugar, se ubicó la región de Norte, en donde se liberó un total de 5.139.000 avispas, en un área de 856,5 ha, lo que representó el 17,1% del total. En cuarto lugar se ubicó la región Sur con 4.612.500 avispas liberadas en 768,8 ha, lo que representó el 15,3%. Finalmente, en las regiones de Guanacaste y Puntarenas se liberó un total de 2.632.500 y 204.000 avispas, para cubrir 438,8 y 34,0 ha; esto representó el 8,8% y 0,7% del total liberado durante el año 2020, respectivamente. El Cuadro 14 y la Figura 9 muestran los resultados señalados.

CUADRO 14.
Cobertura del programa de producción de *Cotesia flavipes* según región durante el año 2020.

REGIÓN	TOTAL	COBERTURA (ha)	%
Turrialba	10.830.750	1.805,1	36,1
Valle Central	6.604.500	1.100,8	22,0
Norte	5.139.000	856,5	17,1
Sur	4.612.500	768,8	15,3
Guanacaste	2.632.500	438,8	8,8
Puntarenas	204.000	34,0	0,7
TOTAL	30.023.250	5.003,9	100

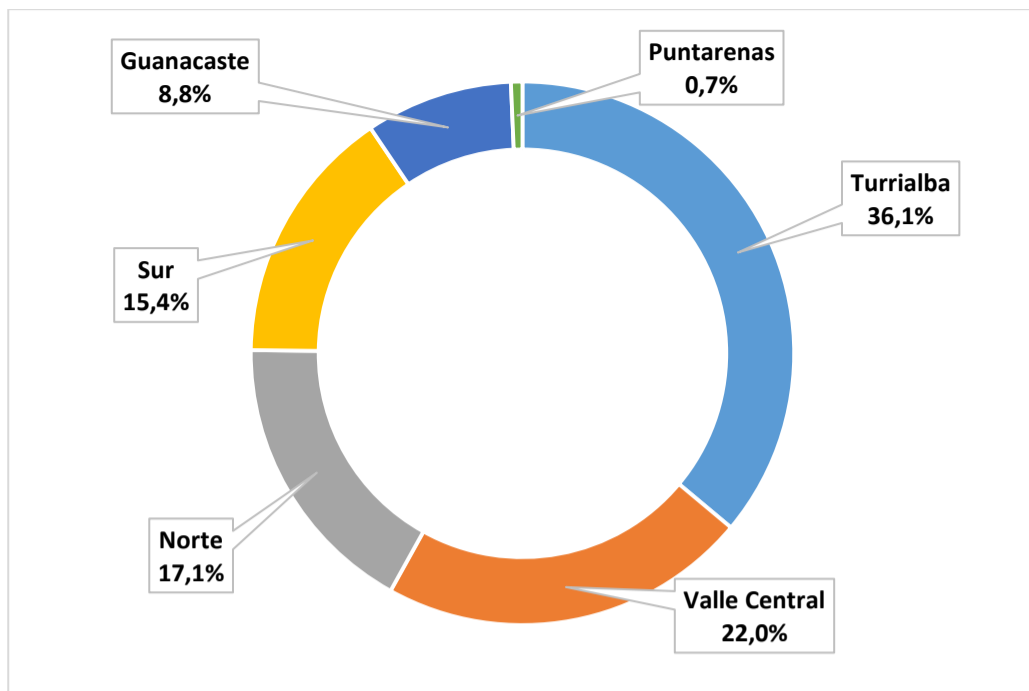


FIGURA 9.
Liberación porcentual de *Cotesia flavipes* según tipo de beneficiario. Año 2020.

1.6. COBERTURA HISTÓRICA DEL PROGRAMA DE PRODUCCIÓN DEL PARASITOIDE *Cotesia flavipes*. PERÍODO 1984-2020.

Con los resultados del año 2020, para el período 1984-2020 (36 años) el Programa de Producción de *Cotesia flavipes*, ha liberado un total de 938.316.247908.292.997 avispas, en un área aproximada a las 156.386,0 ha.

Los dos principales destinos de las avispas han sido el Ingenio Juan Viñas, en donde se ha liberado 319.908.250 avispas, en 53.318,0 ha, lo que representa el 34.094% del total liberado; y las ventas (exportación y venta nacional), destinándose para este rubro un total de 238.238.747 avispas, lo cual representa el 25.390% del total.

Con cantidades significativamente menores a los destinos mencionados, se ubican el Ingenio CoopeVictoria donde se liberó 91.032.750 de avispas en 15.172,1 ha, lo que significó el 9.702% del total liberado durante el período; los Productores del Valle Central con 64.438.750 avispas liberadas en 10.739,8 ha (6.867%); los Productores de la Región Norte con 44.597.500 avispas en 7.416,3 ha (4.742%); el Ingenio Taboga con 36.744.500 avispas en 6.124,1 ha (3.916%); los Productores en la región Sur con 30.698.000 avispas liberadas en 5.116,3 has (3.272%); el Ingenio Quebrada Azul con 28.708.500 avispas en 4.784,8 ha (3.060%); el Ingenio Cutris con 20.340.500 avispas en 3.3.390,1 ha (2,168%) y el Ingenio CoopeAgri con 20.289.500 avispas en 3.381,6 ha (2,162%). Estos y otros beneficiarios menores del Programa se muestran en el Cuadro 15.

CUADRO 15.
Liberación histórica de *Cotesia flavipes* según beneficiario y región. Período 1984-2020.

BENEFICIARIO	REGIÓN	TOTAL	COBERTURA (ha)	%
Ingenio Juan Viñas	Turrialba	319.908.250	53.318,0	34,094
Ventas	Varios	238.238.747	39.706,5	25,390
Ingenio Coopevictoria	Valle Central	91.032.750	15.172,1	9,702
Productores Valle Central	Valle Central	64.438.750	10.739,8	6,867
Productores Zona Norte	Norte	44.497.500	7.416,3	4,742
Ingenio Taboga	Guanacaste	36.744.500	6.124,1	3,916
Productores Región Sur	Sur	30.698.000	5.116,3	3,272
Ingenio Quebrada Azul	Norte	28.708.500	4.784,8	3,060
Ingenio Cutris	Norte	20.340.500	3.390,1	2,168
Ingenio CoopeAgri	Sur	20.289.500	3.381,6	2,162
Productores Guanacaste	Guanacaste	14.012.500	2.335,4	1,493
Ingenio Santa Fé	Norte	8.877.500	1.479,6	0,946
Ingenio El Porvenir	Valle Central	4.698.000	783,0	0,501
Productores Turrialba	Turrialba	4.306.500	717,8	0,459
Ingenio La Argentina	Valle Central	3.432.500	572,1	0,366
Ingenio Providencia	Valle Central	3.177.000	529,5	0,339
Ingenio Coopecañera	Pacífico Central	1.210.500	201,8	0,129
Ingenio El Viejo	Guanacaste	1.189.500	198,3	0,127
Donación y Demostración	Varios	904.250	150,7	0,096
Productores Puntarenas	Pacífico Central	846.000	141,0	0,090
Ingenio Costa Rica	Valle Central	268.500	44,8	0,029
Ingenio CATSA	Guanacaste	213.000	35,5	0,023
Ingenio El Palmar	Pacífico Central	144.000	24,0	0,015
Ingenio San Rafael	Norte	72.000	12,0	0,008
Ingenio Atirro	Turrialba	45.000	7,5	0,005
Guápiles	Atlántico	22.500	3,8	0,002
TOTAL		938.316.247	156.386,0	100

A nivel de tipo de beneficiario y su representatividad regional, los registros históricos desde el año 1984 indican que en la región de Turrialba, los productores liberaron un total de 4.306.500 avispas y los ingenios, 319.953.250 avispas, lo que representa el 1,3 y 98,7% a nivel regional.

En la región Norte los productores liberaron 44.497.500 (43,4%) y los ingenios 57.998.500 (56,6%). En el Valle Central los productores liberaron 64.438.750 avispas (38,3%) y a nivel de ingenios, 103.819.250 (61,7%). En la región Sur del país, los productores liberaron 30.698.000 avispas (60,2%) y en el ingenio de la zona se liberó 20.289.500 (39,8%). En la región de Guanacaste los productores liberaron 14.012.500 avispas (26,9%), mientras que

en fincas de ingenios se liberó 38.147.000 (73.1%). En la región de Puntarenas los productores liberaron 846.000 avispas (85,5%), mientras que los ingenios liberaron 144.000 avispas (14,5%). (Cuadro 16).

CUADRO 16.
Liberación histórica de *Cotesia flavipes* según tipo de beneficiario y su representatividad regional. Período 1984-2020.

REGIÓN	TIPO DE BENEFICIARIO	TOTAL	COBERTURA (ha)	%
Turrialba	Ingenios	319.953.250	53.326	98,7
	Productores	4.306.500	718	1,3
Norte	Ingenios	57.998.500	9.666	56,6
	Productores	44.497.500	7.416	43,4
Valle Central	Ingenios	103.819.250	17.303	61,7
	Productores	64.438.750	10.740	38,3
Sur	Ingenios	20.289.500	3.382	39,8
	Productores	30.698.000	5.116	60,2
Guanacaste	Ingenios	38.147.000	6.358	73,1
	Productores	14.012.500	2.335	26,9
Puntarenas	Ingenios	144.000	24	14,5
	Productores	846.000	141	85,5
Ventas	Nacionales y exportaciones	238.238.747	39.706	100
Otros	Demostración y donación	926.750	154	100
TOTAL		938.316.247	156.386	-

De acuerdo al tipo de beneficiario y para el período 1984-2020, los ingenios, históricamente han utilizado la mayor cantidad de avispas, un total 540.351.500 para una cobertura de 90.059,0 ha, lo que representa el 57,6% del total liberado; mientras que los productores liberaron 158.799.250 avispas en un área de 26.467,0 ha, lo que representó el 16,9% del total liberado. Las ventas acumularon las 238.238.747 avispas, lo que representó el 25,4% y otros destinos (demostraciones de método, donaciones y liberación en la estación de cuarentena) acumularon 926.750 avispas utilizadas, lo cual representó el 0,1% del total (Cuadro 17 y Figura 10.).

CUADRO 17.
Liberación histórica de *Cotesia flavipes* según tipo de beneficiario. Período 1984-2020.

TIPO DE BENEFICIARIO	TOTAL	COBERTURA (ha)	%
Ingenios	540.351.500	90.059	57,6
Productores	158.799.250	26.467	16,9
Ventas	238.238.747	39.706	25,4
Otros	926.750	154	0,1
TOTAL	938.316.247	156.386	100

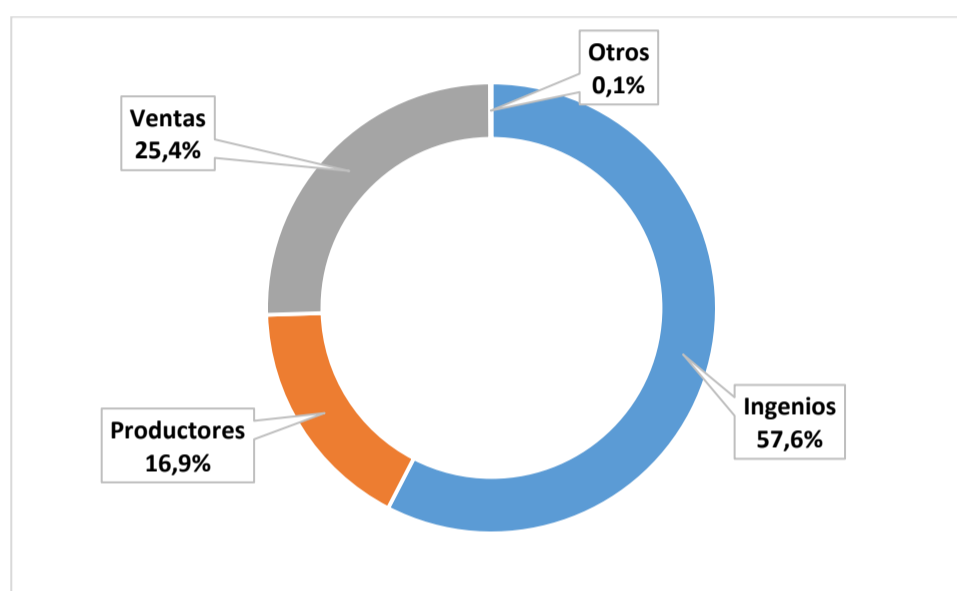


FIGURA 10.
Liberación histórica porcentual de *Cotesia flavipes* según tipo de beneficiario. Período 1984-2020.

A nivel regional, en la zona de Turrialba se liberó 324.259.750 avispas para un área de cobertura de 54.043,0 ha; esto representó el rubro más alto de liberación a nivel nacional con el 34,6% del total. En el Valle Central se liberó un total de 168.258.000 avistas un total de 28.043,0 ha, lo cual representó el 17,9% del total liberado. En la región Norte se liberó un total de 102.496.000 avispas, cubriendo 17.083,0 ha, lo que representó el 10,9%. En la región de Guanacaste se liberó un total de 52.159.500 avispas, para una cobertura total de 8.693,0 ha, lo que representó el 5,6%. En la región Sur se liberó un total de 50.987.500 avispas, para un área de cobertura de 8.498,0 ha, lo que representó el 5,4%. En Puntarenas se liberó un total de 990.000 avispas, cubriendo 165,0 ha, lo que representó el 0,1% del total. Como se mencionó, las ventas acumularon las 238.238.747 avispas, lo que representó el 25,4% del total liberado.

Finalmente, otros destinos de las avispas en demostraciones, donaciones y en aplicaciones en la estación de cuarentena en la zona Atlántica, acumularon 926.750 avispas liberadas, lo que representó el 0.1% del total (Cuadro 18 y Figura 11).

CUADRO 18.
Liberación histórica de *Cotesia flavipes* según región. Período 1984-2020.

REGIÓN	TOTAL	COBERTURA (ha)	%
Turrialba	324.259.750	54.043	34,6
Valle Central	168.258.000	28.043	17,9
Norte	102.496.000	17.083	10,9
Guanacaste	52.159.500	8.693	5,6
Sur	50.987.500	8.498	5,4
Puntarenas	990.000	165	0,1
Ventas	238.238.747	39.706	25,4
Otros	926.750	154	0,1
TOTAL	938.316.247	156.386	100

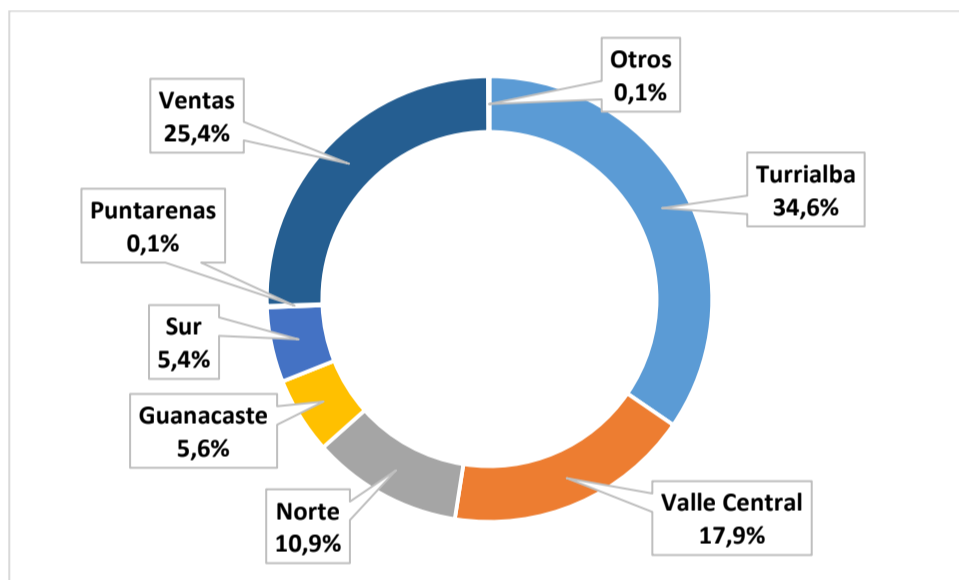


FIGURA 11.
Liberación histórica porcentual de *Cotesia flavipes* según región.
Período 1984-2020.

1.7. Evaluación de tres dietas para la cría en laboratorio de *Diatraea saccharalis* destinada a mejorar la producción del parasitoide *Cotesia flavipes* y la detección molecular de *Nosema sp*”

Pasante: Argerie Melissa Oviedo Bolaños

Introducción

Diatraea saccharalis (LEP: crambidae), denominado “barrenador común de la caña de azúcar”, es una de las principales plagas a las que se enfrenta los agricultores de caña de azúcar (Pérez, *et al.*, 2020). El insecto en su estado larval realiza galerías dentro del tallo de la caña y causa la reducción del peso, muerte apical e incluso fallas de germinación (Borges, *et al.*, 2018). Además, este daño facilita la invasión de microorganismos como bacterias y hongos que son responsables de generar una baja en la calidad de la materia prima (Reguilón, *et al.*, 2014). Por tal motivo, una de las estrategias más eficaces para para mitigar el efecto de este insecto, es el uso de parasitoides que se reproducen en laboratorios que utilizan a *D. saccharalis* como su hospedero (Astola y Narrea, 2019). Para llevar a cabo de forma exitosa la reproducción de los parasitoides, es fundamental proporcionar una dieta eficiente para el barrenador, ya que la avispa necesita de larvas sanas del hospedero poder completar su ciclo de vida de manera adecuada (Vacari, *et al.*, 2012).

Tal como lo señalan Vélez, Castro y Chirinos (2020), la composición en la dieta que se utilice para la cría masiva de *D. saccharalis*, puede influir directamente sobre los diferentes parámetros, como lo son: el peso de las larvas, eficiencia en parasitación, cantidad total de hembras, machos y fallidos de masas, presencia del protozoario *Nosema* sp, y por ende, también puede influir sobre el ciclo de vida del parasitoide (Simões *et al.*, 2015). Por este motivo, es esencial proporcionar una alimentación adecuada para los estadíos inmaduros de este insecto y posteriormente, puedan ser utilizados como hospedadores del controlador biológico, en este caso el parasitoide *Cotesia flavipes* (HYM: braconidae).

No obstante, el efecto de *Nosema* sp también se observa en el parasitoide, ya que no solamente incide sobre la mortalidad del huésped, sino que también impide que *C. flavipes* complete su ciclo de vida e incluso se vea afectada en su comportamiento en cuanto a su orientación, reproducción y eficacia en la parasitación de *D. saccharalis* (Simões *et al.*, 2012). *C. flavipes* también se ve afectada por el papel que desempeña la bacteria endosimbiótica *Wolbachia* sp en el metabolismo, fisiología y reproducción de una gran variedad de especies de Himenópteros (Murthy *et al.*, 2013). Su impacto se observa en la feminización de la progenie masculina debido a su infección; esto es una gran problemática, pues es fundamental mantener una relación estable de hembras/machos para producir un manejo efectivo de la plaga del barrenador (Murthy *et al.*, 2015).

Objetivo general

- Comparar el efecto de tres dietas sobre parámetros del ciclo de vida de *D. saccharalis* para la mejora de la calidad de producción en masa del parasitoide *C.*

flavipes por medio de la medición de los niveles de contaminación por *Nosema* sp y *Wolbachia* sp en larvas parasitadas.

Objetivos específicos

- Determinar la dieta más eficiente para larvas de *D. saccharalis* que permita mayor vitalidad y producción de *C.flavipes*.
- Detectar mediante técnicas moleculares la presencia de *Nosema* sp en *D.saccharalis*.
- Relacionar la proporción de machos/hembras de *C.flavipes* con respecto a la infección de *Wolbachia* sp.

Metodología

Se evaluó el efecto de 3 dietas de iniciación sobre el ciclo de vida en larvas de *D.saccharalis*, de las cuales se aplicaron 3 pruebas distintas con cambios en los componentes de las dietas denominadas “Brasil-Perú”, “Badilla” y “DIECA” (modificada de Mihsfeldt), la cual es la dieta que se utiliza rutinariamente en el proceso de reproducción de *D. saccharalis* por DIECA. Después de preparar las dietas, se procedió a inocular los huevos de *D. saccharalis* que se encontraban en las mejores condiciones de maduración y de un tamaño conveniente dentro de los frascos de vidrio correspondientes a cada dieta. Alrededor de 7-8 días después de ser inoculadas las larvas fueron realimentadas con las mismas dietas, con la diferencia que se adicionó a la licuadora la dosis requerida de formaldehído al 37% y del ácido acético glacial. Esta prueba se realizó tres veces, ajustando algunos factores para mejorar el desarrollo larval.

De los 20 frascos inoculados, se tomaron 10 frascos al azar y de estos se obtuvieron 100 larvas que fueron destinadas para pie de cría y 100 larvas para el proceso de parasitación con *C. flavipes*. Para esto, se vació el contenido de cada uno de estos frascos y se separó las larvas de la dieta con ayuda de unas pinzas estériles. Posteriormente, con el objetivo de obtener las crisálidas y posteriormente, los adultos de *D.saccharalis*, se procedió a colocar individualmente las 100 larvas de cada uno de los tratamientos en las cajas de plástico con un trozo de dieta según corresponda a la prueba utilizada.

Una vez que se obtuvieron las crisálidas de *D. saccharalis*, estas se acondicionaron en la sala de postura hasta que alcanzaron la etapa adulta; una vez el macho copuló a la hembra, se obtuvieron los huevos del barrenador. Es importante destacar que, las condiciones de esta sala se mantuvieron a una temperatura entre 20 y 22°C, con un fotoperiodo de 12 horas. Por último, en cuanto al proceso de parasitación, solamente las

hembras de *C. flavipes* son las que se utilizan para llevar a cabo la obtención de cocones. Estas se caracterizan porque tienen las antenas más pequeñas que los machos y las larvas parasitadas se colocaron en las cajas de plástico con un trozo de dieta para su revisión y recolección de las masas de *C. flavipes*.

Para la detección de *Nosema* sp se llevó a cabo el protocolo proporcionado por el laboratorio de Biología Molecular de DIECA, en el cual, se utilizaron 3 hembras y 3 machos de crisálidas de *D. saccharalis* de cada una de las dietas probadas; también se analizaron las masas de *C. flavipes* obtenidas del proceso de parasitación. Posteriormente a la extracción de ADN, se debe de realizar la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), con el fin de amplificar y detectar la secuencia parcial de la región codificante para la subunidad pequeña del ARNr (SSU) y la subunidad larga (LSU) del gen ARNr mediante los cebadores especificados en el cuadro 1, los cuales fueron diseñados con base en las regiones altamente conservadas de ambas subunidades.

En cuanto a la detección de *Wolbachia* sp se realizó siguiendo el protocolo de extracción de ADN que se utilizó para la detección de *Nosema* sp. De igual forma, las amplificaciones por PCR fueron llevadas a cabo mediante la metodología proporcionada en la detección de *Nosema* sp, utilizando los cebadores específicos para su análisis.

Resultados

En la primera prueba se encontró que la dieta “DIECA” permitió el mayor peso de larvas de *D. saccharalis* ($p < 0.05$), seguido por “Badilla” y por último “Brasil-Perú”. En la segunda prueba, se observó que la dieta que generó un mayor peso en larvas de *D. saccharalis* fue “Badilla” ($p < 0.05$), seguidamente “DIECA” y por último “Brasil-Perú”. En la tercera prueba ($n=30$) no se encontró diferencias significativas para las dietas “DIECA y “Brasil-Perú” ($p > 0.05$); sin embargo, sí se declararon entre la dieta Brasil-Perú” y “Badilla” ($p < 0.05$), e incluso entre “DIECA” y “Badilla” ($p < 0.05$).

Asímismo, se obtuvo la descendencia de las larvas que se utilizaron en la tercera prueba y se aplicaron los mismos componentes de la dieta para inocular las posturas de los adultos que se generaron en dicha prueba, donde se determinó diferencias significativas entre “Badilla” y “DIECA estándar” utilizada en el laboratorio, así como en la dieta “DIECA” que se empleó en la investigación. También se encontraron diferencias significativas entre la dieta “Badilla” y “Brasil-Perú”; sin embargo, no se observaron diferencias entre la dieta “DIECA estándar” y “DIECA” utilizada en la prueba.

En cuanto a las 100 larvas que se utilizaron para el proceso de parasitación con *C. flavipes*, se recolectaron las masas del parasitoide 14 días después de realizar dicho proceso. Por lo que, se midió el porcentaje de eficiencia de cada una de las masas de las tres dietas durante los tres tratamientos, separando las mismas en masa total, cocones, crisálidas, fallidas y muertas. Los Cuadros 19, 20 y 21 muestran los resultados obtenidos.

Cuadro 19

Parámetros de calidad de las masas de *C.flavipes* obtenidos de larvas alimentadas con tres dietas artificiales. Primera prueba.

Brasil-Perú	Badilla	DIECA
4% Masa total 95% Fallidas 1% muertas	96% Masa total 2% Cocones 1% Crisálidas 1% Fallidas	74% Masa total 4% Cocones 5% Fallidos 14% Crisálidas 2% Muertas

Cuadro 20

Parámetros de calidad de las masas de *C.flavipes* obtenidos de larvas alimentadas con tres dietas artificiales. Segunda prueba.

Martín	Badilla	DIECA
20% Masa total 78% Fallidas 2% Crisálidas	87% Masa total 2% Muertas 7% Crisálidas 4% Fallidas	89% Masa total 4% Fallidos 6% Crisálidas 1% Muertas

Cuadro 21

Parámetros de calidad de las masas de *C.flavipes* obtenidos de larvas alimentadas con tres dietas artificiales. Tercera prueba.

Martín	Badilla	DIECA
82% Masa total 16% Fallidas 1% Crisálidas 1% Muerta	68% Masa total 14% Crisálidas 18% Fallidas	91% Masa total 5% Fallidos 2% Crisálidas 2% Muertas

Discusión

La formulación de dietas artificiales es uno de los principales factores que se debe de tomar en consideración para la cría en el laboratorio de *D.saccharalis*, ya que los componentes de la misma influyen directamente sobre el desarrollo, el peso, mortalidad, ciclo de vida y fecundidad, especialmente en su etapa larval (Reguilón *et al.*, 2014). Además, en el estudio de Junior *et al.* (2011), se demuestra que existen diferentes grupos de genes que se expresan en dependencia de la fuente alimenticia y están involucrados en el proceso de desintoxicación y nutrición

Utilizando la dieta “Badilla” que contiene bagazo de caña, se observaron resultados positivos, siendo significativamente mayor que las demás dietas con respecto al peso de las larvas de *D.saccharalis*. Entre las razones se debe a que al alimentar las larvas con caña de azúcar se genera una sobreexpresión en genes que promueven un transporte más eficiente de las moléculas y de esta manera se garantiza la obtención de una mayor proporción en los nutrientes que están disponibles en la dieta (Noriega et al., 2020).

En la tercera prueba, se observó que la dieta “Brasil-Perú” generó un mayor peso en las larvas de *D.saccharalis* con respecto a la dieta “DIECA”. Este resultado es de suma importancia pues lo que se busca obtener son larvas con un tamaño y peso óptimo para ser parasitadas y para pie de cría. Una de las posibles explicaciones por las que esta dieta no brindó buenos resultados en las primeras dos pruebas, pudo deberse a la inactivación parcial de la levadura luego de su esterilización por autoclave; ésta, al seguir activa transformando el azúcar y otros compuestos en CO₂ y alcohol como producto de fermentación, pudo afectar la alimentación y el crecimiento de las larvas (Montealegre y Daza, 2020). Por tal motivo, en la última prueba se decidió autoclavar dicho componente con el fin de que solamente quedara disponible la proteína y demás nutrientes necesarios para el desarrollo de *D.saccharalis* (Yu et al., 2018), lo cual finalmente permitió obtener resultados muy positivos.

Además, no se detectó la presencia del microsporidio en ninguna de las larvas de *D.saccharalis*. No obstante, en las masas de *C.flavipes* analizadas se encontraban infectadas por *Nosema* sp, siendo este un problema que afecta en gran proporción la producción de los cocones, especialmente porque las avispas que se encuentran enfermas pierden su capacidad para detectar y parasitar al barrenador, también sus capacidades fisiológicas y su fertilidad, por lo que, la producción de las masas del parasitoide también se ven disminuidas en gran proporción (Kermani et al., 2014).

Conclusiones

Para obtener un óptimo desarrollo de larvas de *D. saccharalis* y con esto, la máxima calidad de *C. flavipes*, es de suma importancia emplear los componentes necesarios y las cantidades adecuadas dentro de la dieta artificial. Igualmente, es importante elegir los antibióticos más eficaces para disminuir la contaminación con bacterias, ya que está demostrado que las larvas del barrenador de la caña de azúcar, son muy susceptibles a la presencia de bacterias, lo que impide su crecimiento.

Sin embargo, en los últimos años, el mayor problema se ha presentado por la contaminación del microsporidio *Nosema* sp, en donde se ve afectado tanto el huésped como el parasitoide. Por lo que, la detección mediante PCR es una herramienta fundamental para llevar a cabo su análisis en etapas tempranas y prevenir su

propagación de manera más controlada. Por esta razón, es necesario seguir realizando pruebas que permitan disminuir la carga de las esporas en las avispas de *C. flavipes* y generar un aumento en la calidad del proceso de parasitación y por ende de la producción de cocones.

Referencias bibliográficas

Astola Mariscal, S. Z., & Narrea Cango, M. (2019). Biología y comportamiento de *Cotesia flavipes* Cameron (Braconidae) parasitoide de *Diatraea saccharalis* Fabricius (Crambidae). *Ecología Aplicada*, 18(1), 77-83. <http://dx.doi.org/10.21704/rea.v18i1.1309>

Badilla-Fernández, F., Solís-Soto, A. I. y Alfaro-Solís, D. (1991). Control biológico del taladrador de la caña de azúcar *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Pyralidae) en Costa Rica. Control biológico del barrenador del tallo de la caña de azúcar *Diatraea* sp. (Lepidoptera: Pyralidae) en Costa Rica. *Manejo Integrado de Plagas.* , (20-21), 39-44.

Jiang, N., Sétamou, M., Ngi-Song, A. J., & Omwega, C. O. (2004). Performance of *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) in parasitizing *Chilo partellus* (Lepidoptera: Crambidae) as affected by temperature and host stage. *Biological Control*, 31(2), 155-164. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2004.06.002>

Junior, A. L. B., Leonelo, A. F., & de Jesus, F. G. (2011). Addition of shredded stem of sugar cane varieties to artificial diets on the biology of *Diatraea saccharalis* (F.) (Lepidoptera: Crambidae). *Semina: Ciências Agrárias*, 32(1), 39-48. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2011v32n1p39>

Kermani, N., Hassan, Z. A. A., Suhaimi, A., Abuzid, I., Ismail, N. F., Attia, M., & Abd Ghani, I. (2014). Parasitism performance and fitness of *Cotesia vestalis* (Hymenoptera: Braconidae) infected with *Nosema* sp. (Microsporidia: Nosematidae): Implications in integrated pest management strategy. *Plos one*, 9(6), e100671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100671>

Montealegre Daza, Y. (2020). Estudio comparativo para la producción de bioetanol a través de la fermentación en batch, a partir de la biomasa hidrolizada *Eichhornia Crassipes* con las levaduras (*Candida Utilis*) y (*Saccharomyces Cerevisiae*). <http://hdl.handle.net/11371/2278>

MURTHY, K. S., RAMYA, S., VENKATESAN, T., JALAL, S., & JOSE, J. (2013). Feminisation due to *Wolbachia* in *Cotesia vestalis* (Haliday), a parasitoid of the Diamond back moth *Plutella xylostella* (Linnaeus).

Murthy, K. S., Venkatesan, T., Jalali, S. K., & Ramya, S. L. (2015). Reproductive Alterations by *Wolbachia* in the Braconid *Cotesia vestalis* (Haliday). In *New Horizons in Insect Science: Towards Sustainable Pest Management* (pp. 347-351). Springer, New Delhi.

Noriega, D. D., Arraes, F. B., Antonino, J. D., Macedo, L. L., Fonseca, F. C., Togawa, R. C., ... & Grossi-de-Sa, M. F. (2020). Comparative gut transcriptome analysis of *Diatraea saccharalis* in response to the dietary source. *PloS one*, 15(8), e0235575. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0235575>

Paes, J. P., Carvalho, V. R., SOUZA, A. R., Wilcken, C. F., & Bueno, R. C. (2019). Infection by the microsporidium of Clado *Nosema/Vairimorpha* in pupal parasitoids. *Anais da Academia*

Brasileira de Ciências, 91(3).<http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201920180326>

Paris, L., El Alaoui, H., Delbac, F., & Diogon, M. (2018). Effects of the gut parasite *Nosema ceranae* on honey bee physiology and behavior. *Current opinion in insect science*, 26, 149-154.<https://doi.org/10.1016/j.cois.2018.02.017>

Reguilón, C., Medina Pereyra, P., Ordano, M., Salvatore, A., Barros, M. V., Morsolotto Santos, E., & Vicente Cano, M. A. (2014). Evaluación de los efectos de la composición de la dieta artificial para la cría de *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae) y *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae). *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 46(1).<https://bdigital.uncu.edu.ar/6418>.

Simões, R. A., Feliciano, J. R., Solter, L. F., & Delalibera Jr, I. (2015). Impacts of *Nosema* sp.(Microsporidia: Nosematidae) on the sugarcane borer, *Diatraea saccharalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of invertebrate pathology*, 129, 7-12.<https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.05.006>

Simões, R. A., Reis, L. G., Bento, J. M., Solter, L. F., & Delalibera Jr, I. (2012). Biological and behavioral parameters of the parasitoid *Cotesia flavipes* (Hymenoptera: Braconidae) are altered by the pathogen *Nosema* sp.(Microsporidia: Nosematidae). *Biological Control*, 63(2), 164-171.<https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.06.012>

Vacari, A. M., Genovez, G. D. S., Laurentis, V. L. D., & Bortoli, S. A. D. (2012). Fonte proteica na criação de *Diatraea saccharalis* e seu reflexo na produção e no controle de qualidade de *Cotesia flavipes*. *Bragantia*, 71(3), 355-361.<http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052012005000033>

Vélez, E., Castro, R., & Chirinos, D. T. (2020). Biología de *Cotesia flavipes* Cameron sobre el Taladrador del Tallo, *Diatraea saccharalis* Fabricius, en Varios Medios de Cría. *INVESTIGATION*, (13), 77-88.<https://doi.org/10.31095/investigation.2020.13.8>

Yu, T., Zhou, Y. J., Huang, M., Liu, Q., Pereira, R., David, F., & Nielsen, J. (2018). Reprogramming yeast metabolism from alcoholic fermentation to lipogenesis. *Cell*, 174(6), 1549-1558.<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.07.013>



2. PLANTA DE PRODUCCIÓN DE SUSTRATOS PARA SIEMBRA EN VIVERO.



De acuerdo a los registros de utilización de los sustratos, durante el año 2020, el principal usuario fue el programa de Semilleros mediante yemas vegetativas con 8,9 t, correspondiendo esto al 43,5% del total producido. El programa de Variedades utilizó 7,0 t con lo cual se ubicó en el segundo lugar representando el 34,2% del total. En tercer lugar se ubicó el programa de Semilleros mediante la técnica de cultivo de tejidos (*in vitro*), con 4,3 t, representando el 21,1% del total.

Finalmente se requirió un total de 250 kg de sustrato (1,2%) para la realización de investigaciones a nivel de invernadero, enfocadas en el control del joboto, *Phyllophaga* spp, mediante hongos y bacterias entomopatógenas, así como en la evaluación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal. Estos datos se muestran en el Cuadro 22 y la Figura 12.

CUADRO 22.
Utilización de sustratos para siembra según destino. Año 2020.

CLIENTE	AÑO	%
Programa Semilleros (yemas)	8.900,0	43,5
Programa Variedades	7.000,0	34,2
Programa Semilleros (<i>in vitro</i>)	4.300,0	21,1
Investigación	250,0	1,2
TOTAL	20.450,0	100

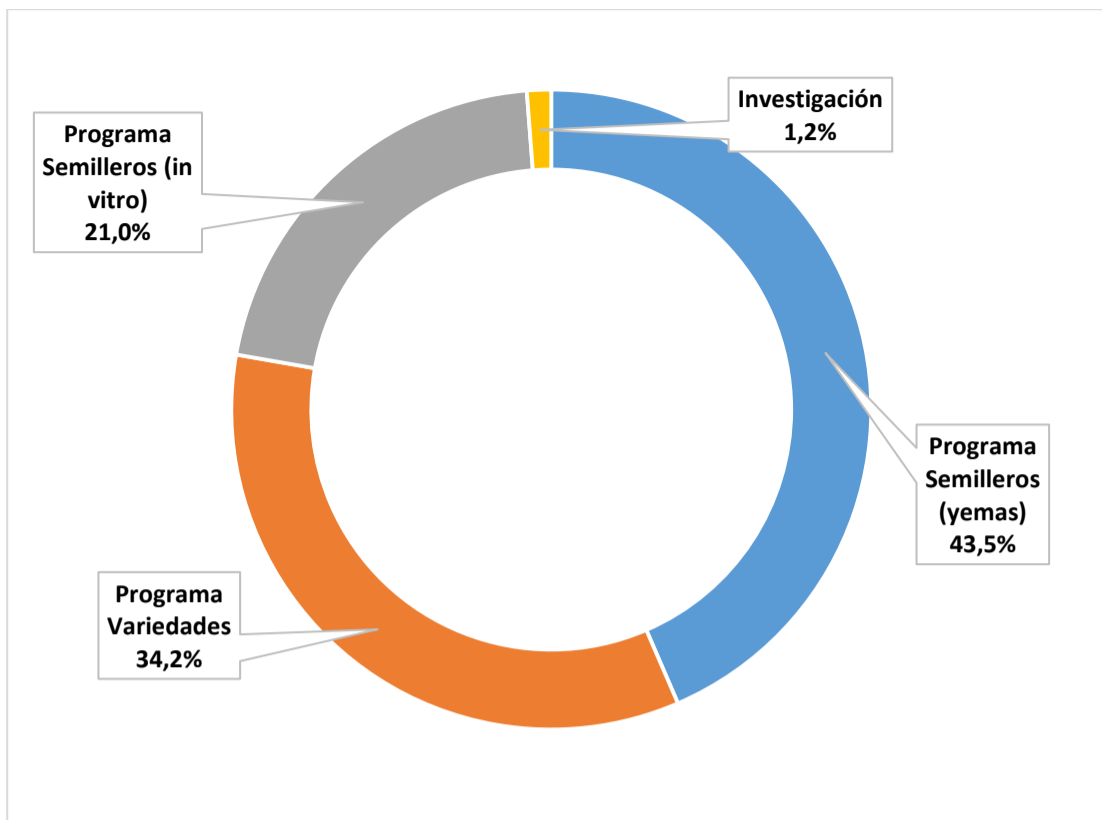


FIGURA 12.

Utilización porcentual de sustratos para siembra según destino. Año 2020.

Con estos resultados, para el período 2017-2020 se ha utilizado un total de 75,66 t de diferentes fórmulas de sustratos para siembra. De este total, el programa de semilleros mediante el Cultivo de Tejidos (*in vitro*) ha aprovechado la mayor cantidad con 25,33 t, representando esto el 33,5%; el Programa de Variedades ha utilizado un total de 21,53 t, para una representatividad del 28,5%.

Por su parte las ventas, acumularon durante el período un total de 11,70 t, lo que representó el 23,84%. Desde el año 2018 no se ha vendido más sustratos, aunque se trabaja en el desarrollo de fórmulas más atractivas y adecuadas para semilleros, viveros y jardinería en general.

Para el programa de producción de semilla básica mediante yemas que reinició sus preparativos para producir material en el año 2021, fue requerido un total de 8,90 t, lo que representó el 11,8% del total para el período.

Para labores de investigación en control biológico de plagas y el desarrollo de biofertilizantes, se requirió un total de 7,95 t, lo que representó el 10,5%. Finalmente, un total de 0,25 t fue donado a posibles clientes para su prueba, lo que representó el 0,3% (Cuadro 23 y Figura 13).

CUADRO 23.
Producción de mensual de sustratos de siembra según destino y fórmula. Período 2017-2020.

USUARIO	AÑO				TOTAL	%
	2017	2018	2019	2020		
Programa Semilleros (<i>in vitro</i>)	6.800	4.600	9.630	4.300	25.330	33,5
Programa Variedades	1.100	5.700	7.730	7.000	21.530	28,5
Ventas	9.200	2.500	0	0	11.700	15,5
Programa Semilleros (yemas)	0	0	0	8.900	8.900	11,8
Investigación	6.000	1.600	100	250	7.950	10,5
Donación	0	0	250	0	250	0,3
TOTAL	23.100	14.400	17.710	20.450	75.660	100

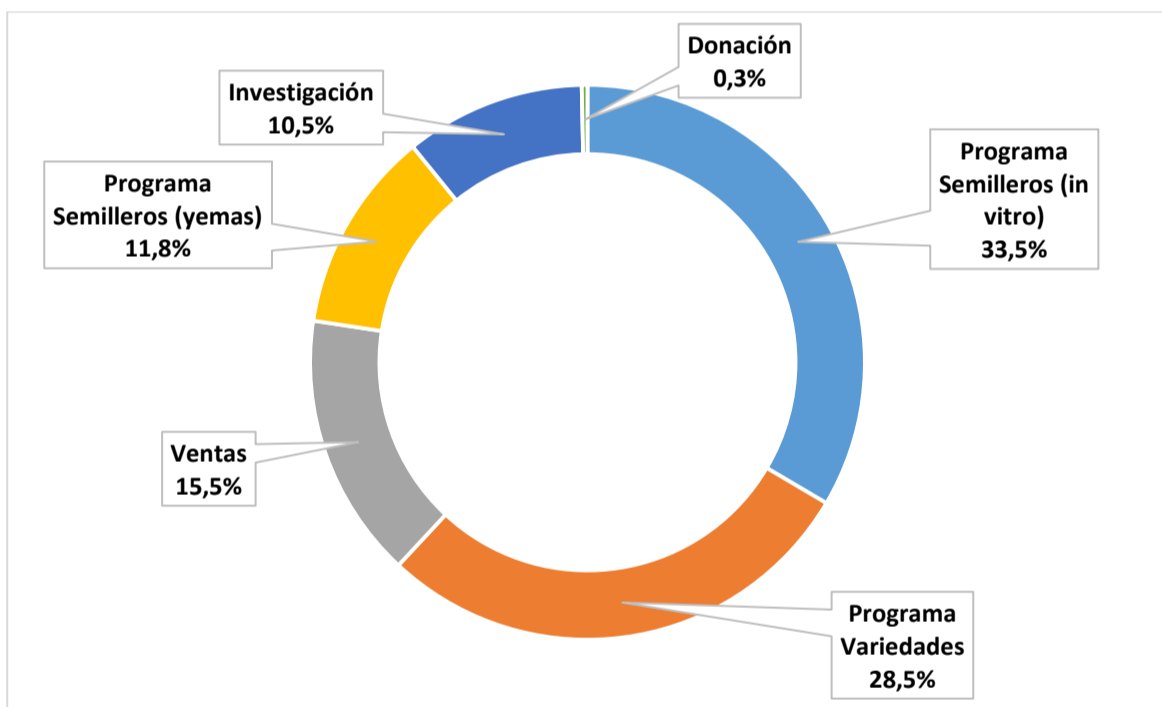


FIGURA 13.

Utilización porcentual de sustratos para siembra según destino. Período 2017-2020.

3. INVESTIGACIONES PARA EL DESARROLLO DE NUEVOS INSUMOS BIOTECNOLÓGICOS A BASE DE AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO Y MICROORGANISMOS CON EFECTO BIOESTIMULANTE Y BIOFERTILIZANTE PARA EL CULTIVO DE LA CAÑA DE AZÚCAR.

3.1. Evaluación de la patogenicidad de 15 cepas de hongos entomopatógenos como agentes de control de jobotos, *Phyllophaga* spp., bajo condiciones de vivero con plantas de maíz (*Zea mays*).

El experimento tuvo el objetivo general de seleccionar cepas de alta patogenicidad sobre larvas de segundo estadio (L₂) del joboto (*Phyllophaga* sp) bajo condiciones de invernadero, utilizando unidades experimentales con plantas de maíz (*Zea mays*) en macetas.

Se sembraron 2 semillas de maíz por cada maceta de 1,8 L de capacidad utilizando suelo de la estación experimental previamente homogenizado. Al cumplir 15 días, se aplicó 1g de fórmula completa de fertilizante por maceta y 15 días después, se colocaron 3 jobotos de estadio L² por maceta. Una semana después se aplicaron los tratamientos estandarizados a una concentración de 5,0 x 10⁷ conidios/ml. A cada maceta se le aplicó 20 ml de la suspensión y 30 días después, se evaluó la mortalidad y el parasitismo. Se utilizaron 3 repeticiones por tratamiento de acuerdo al Cuadro 24.

Cuadro 24.
Tratamientos utilizados en la evaluación de patogenicidad sobre *Phyllophaga* sp.

TRATAMIENTO N°	CEPA	ESPECIE
1	D 0317-Ma	<i>Metarhizium anisopliae</i>
2	D 0117-Bb	<i>Beauveria bassiana</i>
3	D 0618-Bb-PASTO	<i>Beauveria bassiana</i>
4	D 0119-Bb-SUE5	<i>Beauveria bassiana</i>
5	D 0319-Bb-SUE3	<i>Beauveria bassiana</i>
6	D 0112-Bb-PIC	<i>Beauveria bassiana</i>
7	INA-0519-ISA	<i>Isaria</i> sp
8	D 0319-Bb-SUE2	<i>Beauveria bassiana</i>
9	D 0619-Bb-SUE	<i>Beauveria bassiana</i>
10	D 0119-Bb-GUA	<i>Beauveria bassiana</i>
11	D 0219-Bb-SUE2	<i>Beauveria bassiana</i>
12	D 0119-Bb-SUE5	<i>Beauveria bassiana</i>
13	D 0219-Ma-SUE	<i>Metarhizium anisopliae</i>
14	NOMUREA INA	<i>Nomurea</i> sp
16	CHE-CNRCB 213	<i>Metarhizium acridum</i>
15	TESTIGO	

Los resultados mostraron niveles de mortalidad bajos para la mayoría de las cepas evaluadas, con excepción a CHE-CNRCB 213 (*M. acridum*) con una mortalidad del 66,6%; y de las cepas D 0219-Ma-SUE (*M. anisopliae*) y NOMUREA INA (*Nomurea* sp), que alcanzaron el 44,4% de mortalidad. Únicamente las cepas INA-0519-ISA, D 0619-Bb-SUE, D 0119-Bb-SUE5, y NOMUREA INA produjeron signos típicos de parasitismo con hongos, sin embargo no pasaron del 11,1% (Cuadro 25). La Figura 14 muestra las características de los insectos parasitados. En general, ninguna de las cepas evaluadas en este experimento podría considerarse con potencial para el combate de la plaga a nivel comercial.

Cuadro 25.

Mortalidad y parasitismo de los hongos entonopatógenos sometidos a prueba como posibles agentes de control de *Phyllophaga* sp a nivel de invernadero.

TRATAMIENTO N°	CEPA	MORTALIDAD TOTAL (%)	PARASITISMO (%)
1	D 0317-Ma	33,3	0,0
2	D 0117-Bb	22,2	0,0
3	D 0618-Bb-PASTO	11,1	0,0
4	D 0119-Bb-SUE5	11,1	0,0
5	D 0319-Bb-SUE3	33,3	0,0
6	D 0112-Bb-PIC	22,2	0,0
7	INA-0519-ISA	22,2	11,1
8	D 0319-Bb-SUE2	11,1	0,0
9	D 0619-Bb-SUE	33,3	11,1
10	D 0119-Bb-GUA	33,3	0,0
11	D 0219-Bb-SUE2	0,0	0,0
12	D 0119-Bb-SUE5	33,3	11,1
13	D 0219-Ma-SUE	44,4	0,0
14	NOMUREA INA	44,4	11,1
16	CHE-CNRCB 213	66,7	0,0
15	TESTIGO	0,0	0,0



Figura 14.

Aspecto de larvas de *Phyllophaga* sp parasitadas por *Nomurea* sp (Nomurea INA), *Beauveria bassiana* (D 0119-Bb-SUE5) e *Isaria* sp (INA-0519-ISA).

3.2. Evaluación preliminar del hongo *Metarhizium acridum* (CHE-CNRBC 213) como agente de control de la langosta voladora (*Schistocerca* spp).

Durante el mes de octubre se recibió de parte del Instituto Nacional de Innovación y Transferencia Tecnológica Agropecuaria (INTA), 3 placas Petri con cultivos del hongo *Metarhizium acridum*, cepa CHE-CNRBC 213, originalmente desarrollada por el la Subdirección de Control Biológico del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (SENASICA) de México. El objetivo de esta donación fue el de reproducir el material biológico para utilizarlo en el combate de la langosta voladora, *Schistocerca piceifrons piceifrons*, que afectó de forma leve algunas localidades en el Pacífico Central y Norte, así como algunas en el Valle Central Occidental.

La Figura 15 muestra la inoculación artificial de varios especímenes de *Schistocerca pallens* con el hongo bajo condiciones de invernadero. Luego de 30 días de la inoculación, los insectos murieron y fueron acondicionados en cámaras húmedas para promover la colonización del hongo; sin embargo, 15 días después, ningún insecto mostró signos de infección por este hongo.

Adicionalmente se informa que se intentó infructuosamente reproducir al hongo utilizando la misma metodología que se aplica para los hongos *B. bassiana* y *M. anisopliae* que incluye un sistema bifásico con matrices líquidas y sustrato final sólido a base de arroz. Además se informa que la cepa quedó bajo conservación en viales a -80°C para su mantenimiento y posteriores evaluaciones.



Figura 15.

Evaluación del hongo *Metarhizium acridum* sobre *Schistocerca pallens* bajo condiciones de invernadero.

3.3. Efecto de hongos entomopatógenos solos o en mezcla con ALGA-Mi (diatomita), sobre la hormiga loca, *Nylanderia fulva*, en el cultivo de la caña de azúcar.

Javier Bolaños Porras y Alejandro Rodríguez Morales

Se reportan pocos agentes de control de origen microbiano para el control de la hormiga loca, *Nylanderia fulva*; sin embargo, se ha mostrado que cuando hongos entomopatógenos se mezclan con productos abrasivos como la diatomita, el dióxido de Silicio y la caolinita, entre otros, la patogenicidad aumenta significativamente, pues los abrasivos deterioran las capas cerosas y quitinosas presentes en el exoesqueleto de los insectos y que son una barrera natural hacia la infección con estos microorganismos.

El presente experimento tuvo el objetivo de determinar el efecto de cepas nativas de hongos entomopatógenos, por sí mismas o en mezcla con el producto ALGA-Mi (diatomita), sobre la población de la hormiga loca, *Nylanderia fulva*, en el cultivo de la caña de azúcar.

METODOLOGÍA

El experimento se llevó a cabo en finca La Argentina, ubicada en la localidad del mismo nombre, cantón de Grecia, sobre un cañal (caña planta) de 8 meses de edad de la variedad LAICA 0709, seleccionado por su alta infestación con la hormiga loca.

Se prepararon 4 grupos de recipientes, cada uno conteniendo: suspensión del hongo + ALGA-Mi, suspensión del hongo, suspensión de ALGA-Mi (control 1), agua de tubo con humectante WK (control 2). Se estableció una suspensión estandarizada de cada cepa de hongo a una concentración de $5,0 \times 10^7$ conidios/ml. A la mitad del volumen de cada suspensión (50 ml) se les agregó 2,5g de ALGA-Mi, lo que correspondió a una concentración al 5% del producto (tratamientos 2, 4, 6, 8, 10). El grupo con suspensión de los hongos, pero sin ALGA-Mi (tratamientos 1, 3, 5, 7 y 9).

Previo a la inoculación de los productos, se establecieron las unidades experimentales, las cuales consistieron en un trozo de salchicha y otro de salchichón dentro de una tasa plástica con tapa a la que se le hizo un agujero de 10 cm de diámetro y se le colocó un trozo de malla antiáfidos. Una vez confeccionadas estas trampas, se colocaron en el campo en una disposición completamente aleatorizada y una vez estuvieran cubiertas por las hormigas, se aplicó 5 ml de cada tratamiento mediante un aspersor manual y se colocó la tapa. La evaluación se realizó 4 días después determinando porcentualmente la mortalidad de los insectos. Para confirmar o descartar el parasitismo con los hongos, una fracción de los insectos provenientes de cada tratamiento, fue acondicionada en cámara húmeda por 4 días. El cuadro 26 muestra los tratamientos y la figura 16 muestra la unidad experimental. Se utilizó dos repeticiones por cada tratamiento.

Cuadro 26.

Tratamientos utilizados en la evaluación de hongos entomopatógenos y diatomita (ALGA-Mi), como agentes de control de la hormiga, *Nylanderia fulva*.

TRATAMIENTO	CEPA (1,0 X 10 ⁷ con/ml)	ALGA-Mi	WK (0.1%)
T1	D-0119-BB-SUE-5 (VE-16)		X
T2	D-0119-BB-SUE-5 (VE-16)	X	X
T3	D-0219-BB-SUE-2 (VE-33)		X
T4	D-0219-BB-SUE-2 (VE-33)	X	X
T5	D-0219-MA-SUE-1 (VE-36)		X
T6	D-0219-MA-SUE-1 (VE-36)	X	X
T7	D-0619-MA-SUE (VE-27)		X
T8	D-0619-MA-SUE (VE-27)	X	X
T9	Bb- <i>G. mellonella</i> (C. Vega, SC)		X
T10	Bb- <i>G. mellonella</i> (C. Vega, SC)	X	X
C1		X	X
C2			X



Figura 16.
Unidad experimental para evaluar la mortalidad de la hormiga loca.

RESULTADOS

El cuadro 27 muestra la mortalidad de la hormiga loca de acuerdo a cada tratamiento. Como se observa, la mortalidad fue prácticamente total en todos los tratamientos, incluyendo a los controles relativos (con solo hongo y con solo ALGA Mi). Esto indica que la unidad experimental, si bien fue efectiva para atraer a los insectos y mantenerlos adentro, no lo fue para determinar el posible efecto de los

tratamientos. El hecho de no encontrar en campo insectos típicamente parasitados, refuerza la hipótesis de que la causa de muerte fue diferente a los tratamientos utilizados. Sin embargo, sí fue posible encontrar en todos los tratamientos con el hongo *Beauveria bassiana*, insectos momificados por el hongo, tal como se observa en la Figura 17. Es necesario por tanto, investigar nuevas formas de evaluación de estos microorganismos contra la hormiga loca.

Cuadro 27.

Mortalidad porcentual de la hormiga loca según tratamiento.

TRATAMIENTO	CEPA ($1,0 \times 10^7$ con/ml)	R1	R2	PRESENCIA DE HONGO
T1	D-0119-BB-SUE-5 (VE-16)	*	*	No
T2	D-0119-BB-SUE-5 (VE-16)	100	100	No
T3	D-0219-BB-SUE-2 (VE-33)	99	99	No
T4	D-0219-BB-SUE-2 (VE-33)	99	100	No
T5	D-0219-MA-SUE-1 (VE-36)	100	100	No
T6	D-0219-MA-SUE-1 (VE-36)	100	100	No
T7	D-0619-MA-SUE (VE-27)	100	100	No
T8	D-0619-MA-SUE (VE-27)	100	100	No
T9	<u>Bb- G. mellonella</u> (C. Vega, SC)	100	*	No
T10	<u>Bb- G. mellonella</u> (C. Vega, SC)	*	99	No
C1	Control alga + <u>wk</u>	99	*	No
C2	Control <u>wk</u>	*	100	No

*Repeticiones destruidas por un animal.



Figura 17.

Hormiga loca infectada por el hongo *Beauveria bassiana*.

3.4. Selección de hongos y bacterias promotoras de crecimiento vegetal a nivel de vivero, para el desarrollo de bioestimulantes en la producción sostenible de la caña de azúcar.

Alejandro Rodríguez Morales, Javier Bolaños Porras, Ana Isabel Alpizar Alfaro.

Continuando con la labor de selección preliminar de microorganismos bioestimulantes del crecimiento vegetal de la caña de azúcar, que tiene como objetivo de desarrollar bioinsumos que permitan complementar la nutrición del cultivo y a la vez, reducir los niveles de aplicación de fertilizantes sintéticos, durante el año 2020 se estableció un experimento a nivel de invernadero utilizando material vegetal proveniente de la yemas vegetativas de la variedad LAICA 12-340.

En dicho experimento se incluyó 19 tratamientos, correspondientes a igual número de cepas bacterianas, cada uno con 16 repeticiones (Cuadro 28). La unidad experimental consistió de una planta desarrollada a partir de una yema vegetativa, sembrada en bandejas plásticas de 8 huecos; para ello se utilizó el sustrato cañero (45% suelo, 35% abono orgánico y 20% arena). Luego de 30 días de desarrollo, las plantas incluidas dentro de los tratamientos con bacterias, fueron fertilizadas con el 50% de la dosis normal de fórmula completa; asimismo, se establecieron 3 controles: control con aplicación de caldo de cultivo y 50% de la fertilización; control con 50% de la fertilización y control con el 100% de la fertilización. A los 8 días de haber fertilizado, a cada grupo de 16 plantas, se les aplicó 20 ml de la suspensión bacteriana correspondiente a una concentración promedio de 108 UFC/ml. El prodedimiento se repitió 30 días después. La Figura 18 muestra el proceso de inoculación en “drench” de cada bacteria. Al momento de presentación de este informe, no se tenían los datos analizados.

Cuadro 28.

Aislamientos incluidos en el experimento de evaluación de promoción de crecimiento vegetal de la caña de azúcar a nivel de invernadero.

TRATAMIENTO	CÓDIGO CEPA
1	D 0719-BFN1
2	D 0719-Bac7
3	D 0719-Bac10
4	D 0719-BFN3
5	D 0719-Bac17
6	D 0219-Bac28
7	D 0219-Bac29
8	D 0219-Bac34
9	D 0219-Bac35
10	Finca San Pedro Orgánica
11	D 0219-Bac39
12	D 0317-Ma-SAL
13	D 0116-Bb-PIC
14	D 0115-Bb-ARA
15	D 0319-Ma-SUE
16	D 0119-LL-AFI
17	D 0119-LL-AFI2
18	INA-0519-TRASP
19	D 0519-TR-SUE
20	TESTIGO MEDIO CULTIVO
21	TESTIGO FERT. 50%
22	TEST. FERT. 100%



Figura 18.

Aplicación de bacterias a plantas de caña de azúcar provenientes de yemas.

3.5. El Biocarbón, un insumo con potencial para aumentar la sostenibilidad en la producción de caña de azúcar.

Alejandro Rodríguez M., Javier Bolaños P.

El Calentamiento Global asociado a la presencia en la atmósfera de gases con efecto invernadero (GEIs), el deterioro acelerado de los recursos suelo y agua, así como la pérdida de la biodiversidad, son 4 de las más serias amenazas que enfrenta la humanidad para mantener la producción de alimentos ante el aumento de la población mundial. Se estima que para el año 2050 la población pasará de 7 mil millones de habitantes a 10 mil millones y para su alimentación, será necesario producir entre un 40 y un 70% más alimentos, lo cual no sería posible si se considera el ritmo de pérdida del suelo que es de 36 billones de toneladas al año. La figura 19 detalla los principales problemas derivados de la actividad humana.

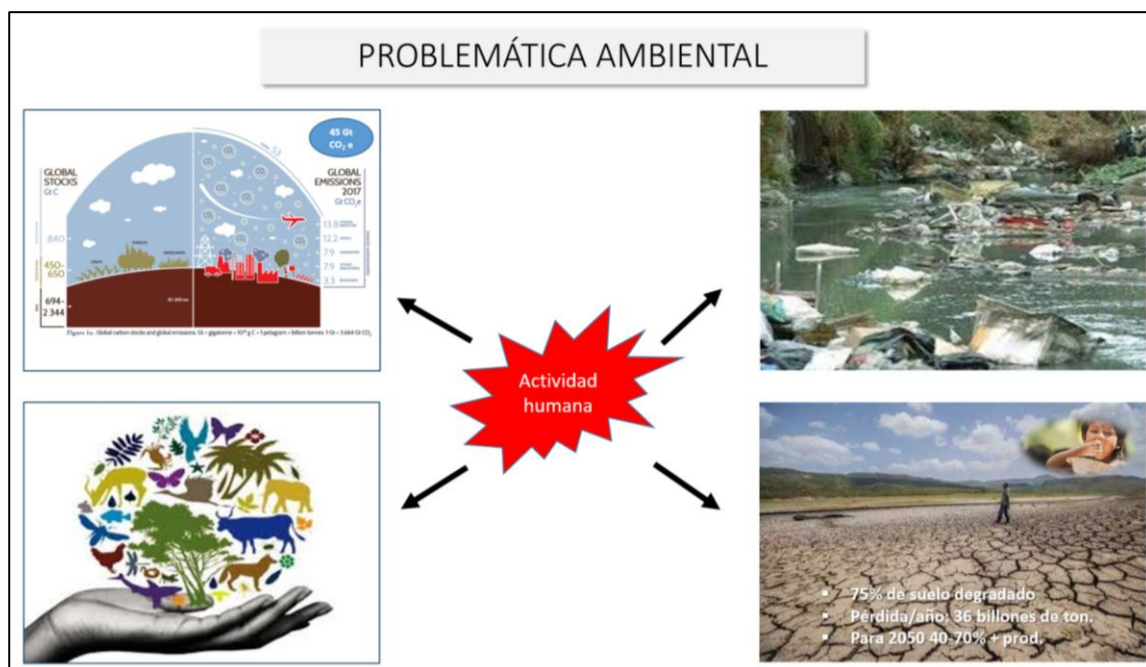


Figura 19.

Principales amenazas ambientales derivadas de la actividad humana.

Ante este panorama, es necesario y urgente desarrollar estrategias para frenar el deterioro ambiental y la pérdida de los recursos suelo, agua y biodiversidad, y de esta forma brindar sostenibilidad a la producción agropecuaria. Dentro de estas estrategias, el uso del biocarbón (o biochar, en inglés), podría ser de gran valor. El biocarbón o carbón vegetal, es el resultado de someter a la biomasa vegetal a un proceso de descomposición química a altas temperaturas en ausencia de oxígeno, o en presencia de bajas concentraciones de este gas; a este proceso se le conoce como pirólisis. El resultado es un material muy estable desde el punto de vista químico, físico y biológico, que además se caracteriza por su alta porosidad, capacidad de absorción y adsorción.

Se puede decir que su descubrimiento fue por casualidad mientras investigadores visitaban la Amazonía brasileña a finales del siglo XIX y encontraron parches de suelo inexplicablemente oscuro al cual llamaron *Terra Preta*. La Amazonía se caracteriza por suelos muy meteorizados por el alto régimen de lluvias de la zona. Posteriormente, a mediados del siglo XX, se comprobó que estos parches se formaron deliberadamente por la acción humana, cuando las tribus indígenas en esta zona depositaban capas de material orgánico de origen vegetal y animal pirolizado de forma rudimentaria. Ellos entendieron que esta práctica favorecía la producción de cultivos aun en zonas con suelos extremadamente empobrecidos.

Al analizar con profundidad al biocarbón para entender cómo este producto mejora la fertilidad natural de los suelos, se encontró que presenta una alta porosidad que le confiere una superficie específica cercana a los 300 m²/g; es sumamente recalcitrante, comprobándose su permanencia en el suelo por milenios, inclusive; presenta una alta capacidad de intercambio catiónico (CIC), lo que evita que nutrientes como el Calcio, el Potasio y el Magnesio, entre otros, se pierdan por lixiviación; es sumamente absorbente, pudiendo retener hasta 5 veces su peso en agua, lo que le permite al suelo mantener por

más tiempo su humedad; además, su pH es superior a 7, pudiendo llegar a 10 dependiendo del material y la temperatura del proceso de pirólisis, lo cual lo convierte en un excelente material para la enmienda de suelos ácidos con pH bajo.

Aunque su aporte nutricional es bajo, al ser altamente concentrado en carbono (hasta 80%), al ser aplicado al suelo, rápidamente estimula la microbiota presente y los ciclos biogeológicos, aumentando la fertilidad natural del suelo por procesos como la fijación biológica del Nitrógeno, la solubilización de Fósforo, Potasio y Azufre, la formación de sideróforos y el aumento en la tasa de mineralización de la materia orgánica, incrementando el ritmo de liberación de los nutrientes que la componen.

Complementariamente, estudios realizados por el autor de este documento y otros a los que se ha tenido acceso, califican al biocarbón como un excelente vehículo para la inoculación de microorganismos benéficos. A nivel nacional en el cultivo de banano, por ejemplo, su uso como vehículo para la aplicación de bacterias promotoras de crecimiento vegetal (PGPB, por sus siglas en inglés), fue evaluada en campo bajo un sistema de reducción del 50% de la fertilización general y del 100% de la aplicación de nematicidas: bajo este esquema se logró obtener un mayor peso y calidad de racimo, en comparación con el control con 100% de fertilización. Está ampliamente demostrado que producto de la estimulación microbiana, ya sea por la simple adición de biocarbón como enmienda, o por su utilización como vehículo para microorganismos benéficos, se obtiene una mejora en la estructura del suelo y se reduce su compactación.

Además, al ser un producto liviano, su aplicación reduce la densidad aparente del suelo. Desde el punto de vista ambiental, su prolongada estabilidad en el suelo y su elevado contenido de Carbono, hacen del biocarbón un producto ideal para aumentar de forma dramática la concentración de Carbono Orgánico del Suelo (COS), y con esto, aprovechar al suelo como reservorio de Carbono, proceso conocido como “recarbonización del suelo”; este proceso permite extraer CO₂ de la atmósfera, fijar el carbono en la biomasa vegetal a través de la fotosíntesis, y depositarlo en el suelo, contribuyendo a reducir la presencia atmosférica de este gas y por tanto, el calentamiento global.

Es por eso que la producción y utilización del biocarbón como enmienda, es catalogada como un proceso carbono negativo (C-). Se ha calculado que mediante la recarbonización del suelo y su regeneración mediante el pastoreo, es posible extraer de la atmósfera 12 Gt CO₂ e y 43 Gt CO₂ e, respectivamente, pudiendo así contrarrestar las 37,5 Gt CO₂ e que se emiten anualmente alrededor del mundo. Otros estudios a nivel de laboratorio e invernadero, han demostrado que el suelo con adición de biocarbón (de varias fuentes) es significativamente menos susceptible a generar óxido nitroso (N₂O) producto de la aplicación de fertilizantes nitrogenados. Es importante recalcar que el N₂O es el responsable de al menos el 70% de la emisión de GEIs en la agricultura y que este gas posee un potencial de calentamiento 300 veces mayor que el propio CO₂, por lo que mitigar la generación de este gas, es una prioridad en la agricultura. La figura 20 resume los beneficios ambientales y edáficos que se producen al aplicar biocarbón

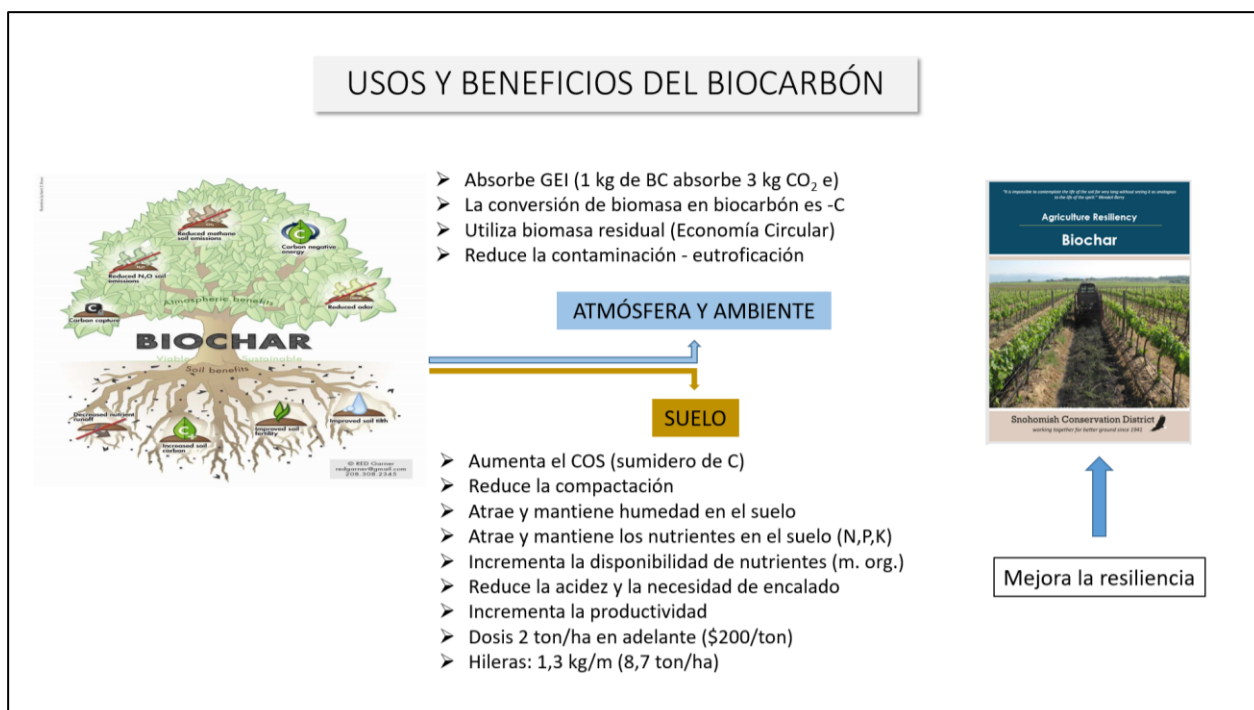


Figura 19.

Beneficios ambientales y edáficos obtenidos al aplicar biocarbón.

Otro aspecto que podría estimular la producción de biocarbón, es el aprovechamiento de la biomasa residual en la agroindustria, los estiércoles y lodos industriales y domésticos que en la actualidad generan problemas ambientales y altos costos para su disposición adecuada. De hecho, el mercado del biocarbón tiene un crecimiento anual del 12%, siendo que para el año 2018 se estableció en 1,5 billones de USD y se espera que para el 2025 alcance ventas por el orden de los 11 billones de USD.

Para Costa Rica, las fuentes de biomasa para producir biocarbón se centran en los proyectos de producción de madera, en los residuos del procesamiento del café, frutas (piña, banano, cítricos), en la actividad de extracción de aceite de palma y en el caso de la caña de azúcar, en el aprovechamiento del bagazo (en regiones en donde hay excedentes), la cachaza y en el aprovechamiento de los rastrojos de la cosecha, que pueden alcanzar hasta las 15t/ha/año. Esta práctica se ha hecho rutinaria en regiones como Louisiana, EEUU, en donde el rastrojo se utiliza para producir biocarbón y para la cogeneración eléctrica.

Por todos los beneficios ambientales y productivos que se obtienen del biocarbón, en el año 2020 se adquirió de la empresa CARBOSUR de México, un horno para producir biocarbón y establecer parcelas de validación de esta tecnología en al menos tres regiones cañeras del país: región Norte, Sur y la zona de Cañas, Guanacaste. El horno tuvo un precio FOB de 15 mil USD y se pagó un adicional de 6 mil USD por su flete desde China en donde el equipo se fabrica. El horno TD 120 tiene capacidad para procesar hasta 550 kg de biomasa y una eficiencia del 60%, aproximadamente, por lo que el producto final tiene un peso teórico de 330 kg. La Figura 21 muestra el proceso de producción de biocarbón mediante el horno adquirido.



Figura 21.

Proceso de producción de biocarbón. Arriba a la izquierda, carga con biomasa; arriba a la derecha, encendido del horno hasta alcanzar 400°C; abajo, producto terminado.

Se estima con base en diferentes publicaciones que cultivos como la caña de azúcar podrían estar recibiendo una aplicación anual de entre 3-5 t/ha por un plazo aún no determinado, lo cual es parte de las incógnitas que deben dilucidarse. Asimismo, se ha conocido que el costo de producción puede rondar los 200 UDS/t, aunque también será necesario establecer un costo del producto.

Este horno puede utilizar cualquier tipo de biomasa, incluso granulada como granza de arroz y pergamino de café, por ejemplo, aunque esta debe de poseer un contenido máximo de humedad. Cada tanda tiene una duración de entre 6 y 8 horas dependiendo del tipo de material y de su humedad inicial. Aparte del biocarbón, el horno produce biogás (también llamado syngas, o gas de síntesis) y vinagre de madera, productos muy útiles para producir energía, calentar calderas y combatir plagas (caso del vinagre).

Si bien aún no se ha establecido un protocolo de validación, la implementación de este sistema podría ser muy útil tanto en la producción de caña orgánica (de la cual se estima hay cerca de 4.600 ha a nivel nacional), o bien, bajo sistemas de producción de caña con reducción de agroquímicos. Las áreas de trabajo que serán complementarias a la aplicación del biocarbón serán: el uso de herbicidas y madurantes orgánicos, la aplicación de abonos orgánicos (o reducción en el uso de fertilizantes químicos), la utilización de agentes de control biológico y los sistemas de siembra en mínima labranza o en siembra

directa, dando la oportunidad para que el suelo no pierda su carbono orgánico por oxidación microbiana. El área de validación podría rondar los 2 a 3 mil metros cuadrados y llevarse hasta 3 o 4 cosechas.

Otros usos del biocarbón serán como complemento del sustrato cañero para la estimulación de las plantas de caña producidas en el laboratorio de cultivo *in vitro* y a partir del programa de yemas; como ingrediente para el desarrollo de sustratos con mayor valor agregado y más posibilidades de comercialización; como producto biológico portador de microorganismos benéficos y como un producto en sí mismo para uso doméstico.